

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1911-1912.

N° 2

APPLICATION DE LA MÉTHODE BIOCHIMIQUE
à une nouvelle étude des Préparations galéniques

DE LA

RACINE DE GENTIANE

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le 26 Décembre 1911.

PAR

Marc BRIDEL

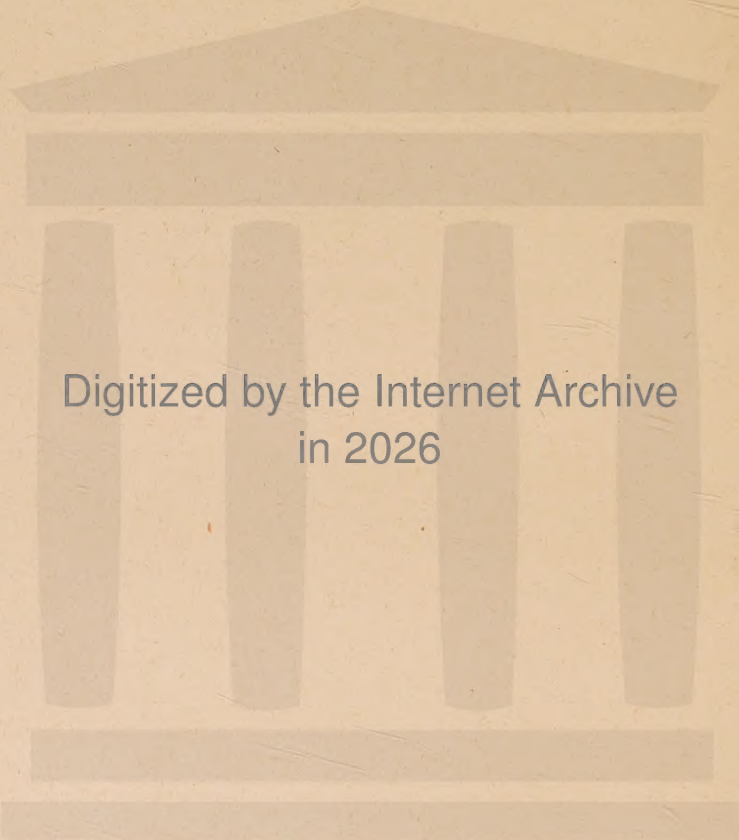
PRÉPARATEUR DU COURS DE PHARMACIE GALÉNIQUE
A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

JURY { MM. BOURQUELOT, Président.
GRIMBERT, Professeur.
HÉRISSEY, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

—
1911



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1911-1912.

N° 2

APPLICATION DE LA MÉTHODE BIOCHIMIQUE
à une nouvelle étude des Préparations galéniques

DE LA

RACINE DE GENTIANE

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le 26 Décembre 1911.

PAR

Marc BRIDEL

PRÉPARATEUR DU COURS DE PHARMACIE GALÉNIQUE
A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS



JURY { MM. BOURQUELOT, Président.
GRIMBERT, Professeur.
HÉRISSEY, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1911

PERSONNEL DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GAUTIER, Directeur, *, 🌿 I.
BOUCHARDAT, Assesseur, O. *, 🌿 I.
E. MUSSON, Secrétaire, 🌿 I.

PROFESSEURS

MM. BOUCHARDAT, O. *, 🌿 I.. Hydrologie et Minéralogie.
GUIGNARD, Membre de l'Institut, O. *, 🌿 I..... Botanique générale.
VILLIERS, *, 🌿 I..... Chimie analytique.
BOURQUELOT, *, 🌿 I..... Pharmacie galénique.
GAUTIER, *, 🌿 I..... Chimie minérale.
RADAIS, *, 🌿 I..... Cryptogamie.
BÉHAL, O. *, 🌿 I..... Chimie organique.
PERROT, *, 🌿 I..... Matière médicale.
COUTIÈRE, 🌿 I..... Zoologie.
BERTHELOT, 🌿 I..... Physique.
GRIMBERT, 🌿 I..... Chimie biologique.
MOUREU, Membre de l'Institut, *, 🌿 I..... Pharmacie chimique.
LEBEAU, 🌿 I..... Toxicologie.

Directeur honoraire : M. GUIGNARD, O. *, 🌿 I.
Professeur honoraire : M. JUNGFLEISCH, O. *, 🌿 I.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. GUERBET, 🌿 I.	MM. GUÉRIN, 🌿 I.
DELÉPINE, 🌿 I.	GUÉGUEN, 🌿 I.
VALEUR, 🌿 A.	LUTZ, 🌿 I.
BOUGAULT, 🌿 A.	HÉRISSEY, 🌿 I.
TASSILLY, 🌿 I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, 🌿 I..... Chimie générale.
COUSIN, 🌿 I..... Chimie analytique.
SOUÈGES, 🌿 A..... Micrographie.
MOURLOT, 🌿 I..... Physique.
BARTHELAT, 🌿 I..... Microbiologie.

Chef du Laboratoire des examens pratiques : M. JAVILLIER, 🌿 A.
Bibliothécaire en Chef : M. DORVEAUX, 🌿 I.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BOURQUELOT,

PHARMACIEN EN CHEF DE L'HÔPITAL LAENNEC,
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de respect et de reconnaissance.

A MA FAMILLE.

A MES AMIS.

INTRODUCTION.

En 1900, MM. Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY ont établi que, pour obtenir la gentiopierine, glucoside de la gentiane jaune, il fallait s'adresser à la racine fraîche, et non à la racine sèche telle qu'on la trouve dans le commerce pharmaceutique (1), la gentiopierine ayant disparu de cette dernière. Ces auteurs ont émis l'opinion que la disparition du glucoside devait être attribuée, en grande partie, au procédé que l'on emploie pour effectuer la dessiccation de la racine de gentiane. On sait, en effet, qu'on ne la dessèche pas par les procédés ordinaires ; selon LENDNER, on lui fait subir, pendant la dessiccation, un traitement qui a pour but de lui donner la teinte rougeâtre exigée par les Pharmacopées. Quand la racine n'est pas encore complètement sèche, au bout de 8 à 10 jours, par exemple, on la met en tas. La masse s'échauffe ; on retourne de temps en temps de façon à mettre à l'extérieur les morceaux qui étaient à l'intérieur et l'on n'achève la dessiccation que lorsque la racine a pris la teinte rougeâtre cherchée.

« Il est clair qu'on a soumis ainsi la racine de gentiane à une sorte de fermentation, et que les effets de celle-ci

(1) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Sur la préparation de la gentiopierine, glucoside de la racine fraîche de Gentiane (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) XII, p. 421, 1900).

viennent s'ajouter à ceux de la dessiccation elle-même » (1).

En 1905, M. G. TANRET, reprenant l'étude de cette drogue (2), reconnut que la gentiopicine pouvait être employée comme remède contre le paludisme. Il vérifia les dires de MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY, à savoir que la racine de gentiane du commerce ne renferme plus de gentiopicine, et il termina son travail en disant « qu'il serait désirable de remplacer les préparations actuelles de gentiane par d'autres obtenues à partir de la racine fraîche : on aurait ainsi des produits contenant les glucosides inaltérés. . . . »

En 1910, nous avons établi, M. BOURQUELOT et moi, que la racine de gentiane, séchée à l'air, dans un grenier, conservait la majeure partie de ses principes immédiats hydrolysables par l'invertine et par l'émulsine, ce qui laisse supposer que la grande différence existant entre la composition de la racine fraîche et la composition de la racine du commerce est due surtout à la fermentation que l'on fait subir à cette dernière (3).

Pour faire ces recherches, nous avons eu recours à la méthode biochimique de M. BOURQUELOT, méthode qui peut être employée au dosage successif, dans un même liquide, des sucres, puis des glucosides dédoublables par l'émulsine.

Cette méthode est bien connue à l'heure actuelle ; néanmoins, comme ce travail repose en entier sur son application, il est bon, je crois, d'en rappeler ici le principe.

(1) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Les sucres de la poudre et de l'extrait de Gentiane ; préparation du gentiobiose en partant de ces médicaments (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) XVI, p. 513, 1902).

(2) G. TANRET. — Contribution à l'étude de la Gentiane. *Thèse Doct. Méd.*, Paris, 1905.

(3) Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL. — De l'influence du mode de dessiccation sur la composition de la racine de Gentiane. Préparation de la gentiopicine en partant de la racine sèche. (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (7) I, p. 156, 1910).

Méthode biochimique (1). — Cette méthode est basée sur la propriété spécifique, que possèdent certains ferments solubles, d'hydrolyser des sucres et des glucosides en solution aqueuse. Cette hydrolyse se traduit à nous par les changements des propriétés physiques (optiques) et chimiques (réductrices) des liquides. Les ferments sont ainsi utilisés pour produire des réactions chimiques, et c'est pour cela qu'on a appelé la méthode, méthode biochimique.

Avant d'exposer son principe, tel qu'il a été précisé en ces derniers temps, il est nécessaire de rappeler quelques-unes des connaissances déjà acquises sur les deux ferments, invertine et émulsine, dont elle met à profit les propriétés.

Le ferment désigné sous le nom d'*invertine* a été découvert par MITSCHERLICH, c'est une poudre qu'on peut obtenir sans mélange d'autres ferments en tuant, par l'alcool, la levûre de bière des boulangers ou levûre haute, fraîche, en employant le procédé indiqué par M. BOURQUELOT.

C'est le réactif par excellence du sucre de canne libre ou combiné à d'autres sucres, comme dans le gentianose, le raffinose, le stachyose, le verbascose, par exemple. Dans tous les cas, son action est limitée à la séparation du groupement lévulose.

L'*émulsine* préparée avec des amandes douces, d'après le procédé donné par M. HÉRISSEY (2), est un mélange de plusieurs ferments. On y a signalé, outre l'émulsine proprement dite, d'autres ferments hydrolysants de certains sucres comme le lactose, le gentiobiose (3), le mélibiose et le manninotriose (4).

(1) *C. R. Ac. des Sciences*, CXXXIII, p. 690, 1901 ; et : Sur l'emploi des enzymes comme réactifs dans les recherches de laboratoire. Enzymes hydratants (hydratases). *Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) XXV, p. 16 et 378, 1907).

(2) Recherches sur l'émulsine. *Thèse doct. Univ.* (Pharmacie) Paris, 1899

(3) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — *C. R. Soc. de Biol.* p. 213, 1903.

(4) J. VINTILESCO. — Etude de l'action des ferments sur le stachyose. *Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) XXX, p. 167, 1909).

Pour employer ces deux ferments, il faut d'abord préparer, avec la plante à essayer, un extrait liquide.

La plante à étudier doit être traitée fraîche, la dessiccation entraînant souvent une destruction partielle des sucres et des glucosides. On divise grossièrement deux ou trois cents grammes du végétal et on projette au fur et à mesure les fragments dans de l'alcool à 90° bouillant, qu'on a additionné, au préalable, d'une petite quantité de carbonate de calcium. L'emploi de l'alcool bouillant a pour but de tuer les ferments hydrolysants qui existent dans les végétaux et qui sont susceptibles d'hydrolyser les sucres et les glucosides ; l'addition de carbonate de calcium est nécessaire pour saturer les acides organiques qui pourraient également amener le dédoublement de ces principes.

On relie le ballon à un réfrigérant à reflux et on continue l'ébullition pendant 20 à 30 minutes.

Après refroidissement, on broie la plante et on lui fait subir un deuxième traitement à l'alcool bouillant, de façon à l'épuiser complètement.

On exprime à la presse, on filtre et on distille le liquide alcoolique à sec, sous pression réduite ; on reprend le résidu par de l'eau thymolée, à chaud ; on laisse refroidir et on filtre. On complète le volume avec de l'eau thymolée, de façon que 100 cm³ de liquide obtenu correspondent à 100 gr. de végétal essayé.

On défèque une partie du liquide au sous-acétate de plomb ; on en fait alors l'examen polarimétrique et on y dose le sucre réducteur.

Au reste du liquide, on ajoute de l'invertine, dans la proportion de 0 gr. 50 à 1 gr. pour 100 cm³ ; on porte à l'étuve à + 30°-35°.

On fait, tous les jours, l'examen polarimétrique du liquide et on y dose le sucre réducteur, après défécation comme dans le premier cas. Quand on a obtenu les mêmes chiffres

deux jours de suite, c'est que l'action du ferment est terminée.

La plante contient-elle du saccharose ou un autre sucre renfermant du lévulose uni à du glucose, on constate un *recul* de la déviation vers la gauche et une augmentation de sucre réducteur. Si le sucre rencontré est du saccharose, les changements optiques observés coïncident avec ceux qu'indique le calcul, en considérant le sucre réducteur formé comme du sucre interverti.

On porte alors le liquide au bain-marie bouillant, en vase clos, pendant 16 à 20 minutes, pour détruire l'invertine. Après refroidissement, on ajoute de l'émulsine, dans la proportion de 0 gr. 25 pour 100 cm³ de liquide et on replace le flacon à l'étuve.

Les jours suivants, on renouvelle, après défécation préalable, l'examen du liquide au polarimètre et le dosage du sucre réducteur. Si on constate un *retour* de la déviation polarimétrique vers la droite, et une augmentation du sucre réducteur, on peut conclure à la présence d'un glucoside lévogyre dérivé du glucose. Ce changement est généralement rapide ; cependant, l'action hydrolysante du ferment peut être retardée pour diverses causes, mais, avec la plupart des glucosides, il suffit d'une action de 5 à 6 jours pour qu'ils soient entièrement hydrolysés.

Si la plante contient un sucre comme le raffinose, le stachyose ou le verbascose, en même temps qu'un glucoside, on constate alors que la déviation, après avoir subi le retour à droite, recule de nouveau lentement ; en même temps, la quantité de sucre réducteur augmente. Ce second changement est dû à l'hydrolyse des sucres nouveaux mis en liberté par l'invertine : mélibiose etc..., hydrolyse due à des ferments spéciaux que l'on rencontre dans l'émulsine.

On conçoit aussi que, parfois, le retour et le recul puissent se superposer ; la déviation ne changera pas, tandis

que la quantité de sucre réducteur augmentera. Nous avons rencontré ce cas tout à fait spécial, M. BOURQUELOT et moi, dans la graine d'*Entada scandens* Benth. (1).

Mais, dans la généralité des cas, le glucoside existe dans les plantes sans être accompagné d'un de ces sucres dont la présence complique le problème.

Quand le glucoside est seul, on peut avoir d'utiles indications en établissant le rapport qui existe entre le retour de la déviation vers la droite et la quantité de sucre réducteur formé. C'est ce rapport, exprimant en milligrammes la quantité de sucre réducteur formé pour un retour de 1°, que M. BOURQUELOT appelle *indice de réduction enzymolytique* (2).

Cet indice de réduction constitue une constante caractéristique de chaque glucoside et permet de reconnaître si on est, dans une plante, en présence d'un glucoside connu, et si ce glucoside y est seul.

Le dosage du sucre réducteur se fait habituellement en faisant tomber directement la solution goutte à goutte dans la liqueur de Fehling, portée à l'ébullition ; le terme de la réaction est marqué par la décoloration totale de la liqueur cupro-potassique, après dépôt de l'oxyde de cuivre formé.

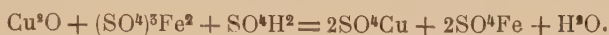
Les liquides extractifs dans lesquels il faut faire le dosage sont généralement colorés en jaune, et la fin de la réaction est difficile à saisir. C'est pourquoi, ayant besoin de dosages très précis, j'ai abandonné cette ancienne méthode. J'ai eu recours à un procédé de dosage indirect dont

(1) EM. BOURQUELOT et M. BRIDEL. — Sur la recherche du raffinose dans les végétaux. Sa présence dans deux graines de Légumineuses : *Erythrina fusca* Lour. et *Entada scandens* Benth. (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) XXX, p. 162, 1909).

(2) EM. BOURQUELOT. — Nouvelle contribution à la méthode biochimique de recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par l'émulsine : son application à l'étude des plantes employées en médecine populaire. (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (7) II, p. 241, 1910).

le principe a été autrefois indiqué par MOHR (1). Ce principe est le suivant :

On dissout l'oxydure de cuivre dans une solution acide de sulfate ferrique ; il passe à l'état de sulfate de cuivre et une quantité correspondante de sel ferrique est réduite à l'état de sel ferreux.



On dose alors le sel ferreux à l'aide d'une solution de permanganate de potassium titrée et on calcule le poids de cuivre réduit correspondant.

En 1906, M. G. BERTRAND (2) a précisé les détails techniques de cette méthode et publié des tables indiquant, de milligramme en milligramme, les quantités des principaux sucres réducteurs correspondant aux poids de cuivre trouvés. En suivant la technique de BERTRAND, cette méthode donne des résultats d'une grande précision ; tous les dosages de sucre réducteur que j'ai faits dans ce travail l'ont été en utilisant ce procédé, qui n'est d'ailleurs pas plus long que le procédé ordinaire à la liqueur de Fehling.

Mon travail se divise en deux parties :

Dans la première partie, j'étudierai la composition de la racine de Gentiane fraîche et de la racine desséchée à l'air.

Dans la deuxième, se trouvera l'étude des préparations galéniques de Gentiane obtenues avec une racine desséchée sans lui faire subir de fermentation.

La première partie est subdivisée en 3 chapitres.

Le premier est une revue de l'état actuel de nos connaissances sur les principes immédiats contenus dans la Gentiane.

(1) *Zeit. f. analyt. Chim.*, XII, p. 296, 1873.

(2) Le dosage des sucres réducteurs (*Bull. Soc. Chimique* (3), XXXV, XXXVI, p. 1287, 1906).

Dans le deuxième, j'exposerai les résultats du travail que j'ai fait en 1910, en collaboration avec M. BOURQUELOT.

Dans le troisième, on étudiera les variations dans la composition de la racine fraîche au cours de la végétation d'une année, puis le dosage des principes immédiats dans la racine séchée sans fermentation.

La deuxième partie est subdivisée en 5 chapitres :

Dans le chapitre I, on trouvera l'étude de la composition des teintures préparées par deux procédés, teinture à froid, teinture à chaud.

Le chapitre II sera consacré à l'étude de l'action de l'émulsine sur la gentiopicroïne, en milieu alcoolique, étude qui découle tout naturellement des résultats qui ont été obtenus dans le chapitre précédent, et qui les explique.

Dans le chapitre III, viendra se placer l'étude de la composition des teintures de Gentiane préparées par macération, avec de l'alcool à 95°, et par lixiviation avec de l'alcool à 60°, dans le but d'éviter l'hydrolyse de la gentiopicroïne pendant la préparation même.

Dans le chapitre IV, on trouvera l'étude d'un extrait aqueux préparé conformément au Codex de 1908, l'étude d'un extrait alcoolique préparé par lixiviation avec de l'alcool à 60°, et celle du vin et du sirop de Gentiane.

Dans le chapitre V, on s'occupera de la conservation de certaines de ces préparations galéniques, notamment de la poudre et des teintures.

Enfin, un dernier chapitre sera réservé aux conclusions que l'on peut tirer de cette étude.

Tout ce travail a été accompli dans le laboratoire de M. le Professeur BOURQUELOT. C'est grâce aux excellents conseils et aux nombreux encouragements que ce Maître bienveillant m'a toujours prodigués pendant cinq années de travail à ses côtés que j'ai pu mener à bien cette tâche que je m'étais assumée. Aussi, je suis heureux de pouvoir

lui témoigner ici l'expression de ma profonde reconnaissance et de mon respectueux attachement.

Je dois remercier aussi M. le Professeur agrégé HÉRISSEY qui, en maintes circonstances, m'a donné des conseils dont j'ai pu apprécier l'utilité.

Les racines de Gentiane qui m'ont servi au cours de ce travail m'ont toutes été envoyées fraîches, de Gérardmer, par mon aimable confrère M. Dufour qui s'était gracieusement mis à ma disposition. Je suis heureux de lui adresser ici mes meilleurs et mes plus sincères remerciements, et je le prie de croire à toute ma gratitude.

PREMIÈRE PARTIE.

Composition de la racine fraîche et de la racine sèche de Gentiane.

CHAPITRE PREMIER.

Historique. — Composition chimique de la racine fraîche de Gentiane.

La racine de Gentiane officinale est fournie par la Gentiane jaune, *Gentiana lutea* L., de la famille des Gentianacées. C'est une plante herbacée vivace, à feuilles glabres, opposées, poussant, en France, dans la Côte-d'Or, les Vosges, le Jura, l'Auvergne, les Pyrénées, principalement sur les flancs des montagnes, à partir d'une certaine altitude.

L'emploi en thérapeutique de la racine de Gentiane remonte à de longues années. LÉMERY, dans son *Dictionnaire ou Traité universel des drogues simples* (1), en parle en ces termes :

« La racine de Gentiane est atténuante, apéritive, alexipharmaque ; c'est un bon remède contre les morsures du chien en-

(1) 4^e édition, Paris, 1727, p. 236.

ragé et des autres bêtes venimeuses, pour exciter la sueur, pour résister au venin, pour tuer les vers, pour provoquer l'urine et les mois aux femmes ; pour chasser les fièvres intermittentes, pour déterger les plaies, pour résister à la gangrène ; on l'emploie intérieurement et extérieurement. »

Au commencement du XIX^e siècle, elle jouit d'une grande réputation, surtout comme amer ; et, à l'heure actuelle, c'est encore un remède populaire très employé.

Les premières recherches dans le but d'établir la composition de la racine de Gentiane datent du début du siècle dernier.

Le premier travail sur ce sujet est dû à HENRY en 1819 (1). Cet auteur y a décelé :

1^o une matière qui ressemble à de la glu ;

2^o une matière de nature résineuse, unie à un peu d'huile qui donne son odeur à la Gentiane ;

3^o une substance extractive qui paraît être la partie active et « qui est à la Gentiane ce que l'émétine est à l'Ipéca » ;

4^o une gomme unie à une matière colorante ;

5^o un sel à base de chaux, présentant les caractères des phosphates ;

6^o Henry n'y a trouvé ni amidon, ni inuline, ni matière analogue aux alcalis.

A la même époque, parut également le travail de GUILLEMIN et FÆCQUEMIN (2). D'après ces auteurs, la racine de Gentiane renferme de la gomme, du sucre, de la résine, et une substance résino-oléagineuse particulière.

Les cendres renferment les acides carbonique, chlorhydrique, sulfurique unies à la chaux, l'alumine et la magnésie ; on trouve également dans la racine du fer et de la silice.

En 1821, HENRY et CAVENTOU cherchèrent à en isoler le principe amer (3). Ces deux savants s'adressèrent à la racine sèche des pharmacies et ne parvinrent à isoler aucun principe à l'état pur.

(1) Examen de la racine de Gentiane (*Journ. de Pharm. et de Chim.*, (2), V, p. 97, 1819).

(2) Essai d'analyse chimique de la racine de Gentiane. (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (2) V, p. 110, 1819)

(3) Sur le principe qui cause l'amertume dans la racine de Gentiane (*Gentiana lutea*). (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (2) VII, p. 173, 1821).

Leur *gentianin* est une masse cristalline, poisseuse et de consistance molle, jaune, amère, insoluble dans l'eau. On doit le regarder, non comme une substance pure, mais comme un extrait éthéré de Gentiane.

En 1837, LECONTE (1) reprit l'étude du gentianin et en isola un principe cristallisé, jaune, dépourvu d'amertume, qu'il proposa d'appeler *gentisin*.

Un peu avant la publication de LECONTE, avait paru un travail de TROMMSDORFF sur le même sujet (2). De même que LECONTE, TROMMSDORFF constata que la matière cristallisée que l'on trouve dans le gentianin d'HENRY et CAVENTOU n'est pas le principe amer de la Gentiane. Les propriétés attribuées par TROMMSDORFF à ce corps cristallisé diffèrent de celles que LECONTE lui a reconnues. D'après le premier, il se sublime sans résidu à une chaleur modérée, et il décompose les carbonates de leurs combinaisons. LECONTE, au contraire, prétend que le *gentisin* ne peut se sublimer sans que la plus grande partie ne se décompose, et que l'acide carbonique le déplace des combinaisons alcalines, en le précipitant sous la forme pulvérulente.

L'étude chimique du gentisin fut reprise, par la suite, par BAUMERT (3), puis par HLASIWETZ et HABERMANN, et plus récemment par KOSTANECKI et ses collaborateurs (4).

En 1838, DUCK (5) chercha à séparer le principe amer ; il ne put obtenir qu'un produit amorphe, très amer, soluble dans l'eau en toutes proportions.

C'est en 1862 que KROMAYER (6) parvint à préparer à l'état

(1) Faits pour servir à l'histoire chimique de la racine de Gentiane.

Thèse présentée et soutenue à l'Ecole de Pharmacie de Paris le 29 août 1837. (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (2) XXIII, p. 465, 1837).

(2) Ueber den crystallinischen Bestandtheil der Enzianwurzel. (*Liebig Annalen*, XXI, p. 134, 1837).

(3) Ueber die Zusammensetzung des Gentianins. (*Liebig Annalen*, LXII, p. 106. 1847).

(4) Pour la bibliographie complète de cette question qui sort du cadre de notre travail, voir la conférence faite à la Société chimique de France le 2 mai 1903, p. 3 et 4.

(5) Ueber den Wirksamen Bestandtheil der Gentiana. (*Arch. d. Pharm.* (2) XV, p. 255, 1838).

(6) Ueber das Enzianbitter. (*Arch. d. Pharm.* (2) CX, p. 27, 1862).

cristallisé le principe amer que tous les autres avaient cherché en vain. Mais, tandis que les précédents chercheurs s'étaient adressés à la racine sèche, KROMAYER traita la racine fraîche, parce que, pensait-il, pendant la dessiccation, les principes amers des végétaux subissent des transformations qui les rendent incristallisables. KROMAYER nomma son produit la *gentiopicrine*, et reconnut sa nature glucosidique.

De 1862 à 1900, aucun travail ne fut publié sur ce sujet.

En 1900, MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY (1) donnèrent un procédé de préparation de la gentiopicrine, procédé basé sur le traitement par l'alcool bouillant de la racine fraîche de Gentiane. En opérant par ce moyen, ils retirèrent, de 22 kilogrammes de racines, 250 gr. de gentiopicrine, alors que KROMAYER n'en avait obtenu que 4 gr. en partant de 3.000 gr. de matière première.

Les sucres de la Gentiane ont fait également l'objet de nombreuses recherches.

En 1882, MEYER (2) signala, dans la racine fraîche, la présence d'un sucre nouveau, qu'il appela *gentianose*, bien que le plus grand nombre des propriétés qu'il lui attribue soient celles du saccharose.

L'étude du gentianose fut reprise en 1898 par MM. BOURQUELOT et NARDIN (3) qui donnèrent un moyen de le préparer.

La constitution de ce sucre fut fixée définitivement par MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY en 1901 (4), qui découvrirent, en faisant cette étude, un nouveau biose, le *gentiobiose*, provenant de l'hydrolyse partielle du gentianose (5).

En 1905, parut la thèse de M. G. TANRET (6). Toute une par-

(1) Sur la préparation de la gentiopicrine, glucoside de la racine fraîche de Gentiane. (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) XII, p. 421, 1900).

(2) Ueber Gentianose (*Zeitschrift für physiol. Chemie*, VI, p. 135, 1882).

(3) Sur la préparation du gentianose (*Journ. de Pharm. et de Chim.*, (6) VII, p. 289, 1898).

(4) Sur la constitution du gentianose (*Journ. de Pharm. et de Chim.*, (6), XIII, p. 305, 1901).

(5) Sur le gentiobiose cristallisé (*Journ. de Pharm. et de Chim.*, (6), XVI, 417, 1902).

(6) Contribution à l'étude de la Gentiane. *Thèse Doct. Méd.*, Paris 1905. J. B. Baillière et fils éditeurs.

tie de ce travail est consacrée à l'étude des principes immédiats de la racine de Gentiane.

M. G. TANRET donna un procédé nouveau pour retirer la gentiopicrine de la racine fraîche. Ce procédé consiste à épuiser l'extrait alcoolique de Gentiane fraîche par l'éther acétique hydraté et bouillant. Par concentration convenable des liquides extractifs, la gentiopicrine cristallise.

C'est une méthode très pratique et qui permet d'obtenir très rapidement une forte quantité de gentiopicrine, relativement pure dès la première cristallisation.

A côté de ce glucoside, cet auteur en découvrit deux autres, la *gentiamarine*, glucoside amorphe, et la *gentiine*, cristallisée.

Il reconnut en outre que la racine fraîche de Gentiane renferme du gentiobiose libre. Il donna un procédé d'analyse de l'extrait de Gentiane par traitement à l'éther acétique qui le sépare en deux parties : l'une *amère*, soluble dans l'éther acétique, qui comprend les glucosides, la gentisine, les graisses ; l'autre *sucrée*, insoluble dans ce véhicule qui ne renferme plus que les sucres et les sels.

Composition de la racine fraîche.

On peut diviser en trois groupes les principes immédiats que renferme la racine de Gentiane fraîche : I. les glucosides ; II. les sucres ; III, les principes divers.

C'est dans cet ordre que nous allons étudier ces principes, en insistant surtout sur les deux premiers groupes et sur les propriétés que l'on utilise plus particulièrement au cours de ce travail.

I. — GLUCOSIDES.

Les glucosides que contient la racine de Gentiane sont au nombre de trois :

Gentiopicrine.
Gentiamarine.
Gentiine.

Gentiopictine. — La gentiopictine a été découverte par KROMAYER en 1862. Son étude fut reprise en 1900 par MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY et en 1905 par M. G. TANRET. On la retire facilement de la racine fraîche en employant le procédé à l'éther acétique préconisé par TANRET.

Elle cristallise soit anhydre, soit hydratée; elle renferme dans ce cas $1/2 \text{ H}_2\text{O}$. Hydratée, elle fond à $+ 121^\circ\text{-}122^\circ$; anhydre, à $+ 191^\circ$.

Son pouvoir rotatoire est $\alpha_D = -198^\circ,5$ pour le produit hydraté et $\alpha_D = -200^\circ,7$ pour le produit anhydre (TANRET). MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY avait trouvé $\alpha_D = -196^\circ$ pour le corps hydraté, ce qui représente pour le corps anhydre $\alpha_D = -200^\circ,9$.

La gentiopictine est une lactone, ainsi que l'a établi M. G. TANRET. Quand on la traite par des solutions de potasse ou de baryte, on obtient un gentiopictinate : l'alcalinité de la liqueur diminue progressivement. Les gentiopictinates ne sont pas amers. En les traitant par l'acide sulfurique, on obtient une solution d'acide gentiopictinique, corps instable qui redonne assez rapidement sa lactone, la gentiopictine.

La gentiopictine est un glucoside hydrolysable par les acides étendus et bouillants : on obtient dans ce cas du glucose-d et un produit amorphe, brun.

Si on l'hydrolyse par l'émulsine, on obtient également du glucose, mais le second produit de dédoublement est cristallisé et blanc : c'est la *gentiogénine*. La gentiogénine a été obtenue cristallisée pour la première fois par MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY (1). Elle est insoluble dans l'eau et se dépose en cristaux sur les parois du vase au cours de l'hydrolyse.

La gentiogénine possède une fonction lactone (TANRET).

Cet auteur a signalé une réaction colorée très nette et qu'on peut réaliser facilement :

« La gentiogénine donne avec l'acide sulfurique une réaction caractéristique, extrêmement sensible, et qui permet d'en déceler même des traces. Pour l'obtenir, à un peu de gentiogénine, on ajoute 3 à 4 gouttes d'acide sulfurique pur : après quelques

(1) Comptes-rendus de la Société de Pharmacie. Séance du 1^{er} février 1899 (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) IX. p. 220, 1899).

instants, l'acide se colore en brun. Si alors on ajoute de l'eau goutte à goutte, on voit se développer une coloration bleue. Cette teinte bleue, très intense (on croirait du Fehling pur), ne disparaît pas par addition d'eau ; on la fait disparaître par addition d'alcali, puis reparaitre par addition d'acide, ce qui semble prouver qu'elle est due à la formation d'un acide, bleu de sa nature (1) ».

La formule de la gentiopirine, établie par M. G. TANRET est :



On peut écrire l'équation de son hydrolyse par l'émulsine de la façon suivante :



La gentiopirine fournit donc 50,56 pour 100 de glucose-d.

En calculant l'indice de réduction enzymolytique, d'après la formule donnée par M. BOURQUELOT (2), on trouve 111 ; autrement dit, dans l'hydrolyse par l'émulsine, un retour de la déviation vers la droite de 1° correspondra à la formation de 0 gr. 111 de sucre réducteur pour 100 cm³ de la solution.

On peut donc, en s'appuyant sur cette donnée et sur l'équation ci-dessus, calculer la quantité de gentiopirine contenue dans un liquide. On procédera à l'hydrolyse par l'émulsine ; l'examen polarimétrique et le dosage du sucre réducteur, effectués avant et après hydrolyse, donneront des chiffres avec lesquels on calculera l'indice de réduction. Si cet indice est 111, ou très rapproché de 111, on pourra conclure que le glucoside hydrolysé est bien de la gentiopirine. Il suffira alors de multiplier la quantité de sucre réducteur produit par l'émulsine par le chiffre 1,977 pour avoir la quantité correspondante de gentiopirine. On sait qu'une molécule de glucose, 180, est fournie par une molécule de gentiopirine, 356.

(1) G. TANRET. — *Loc. cit.*, p. 40.

(2) EM. BOURQUELOT. — Sur quelques données numériques facilitant la recherche des glucosides hydrolysables par l'émulsine (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) XXIII, p. 369, 1906).

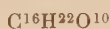
Gentiamarine. — La gentiamarine est un glucoside amorphe qui a été découvert par TANRET, en 1905, à côté de la gentiopicroïne.

Elle est douée d'une amertume beaucoup plus désagréable que la gentiopicroïne.

Son pouvoir rotatoire oscille entre $\alpha_D = -90^\circ$ et $\alpha_D = -80^\circ$.

Elle ne possède pas de fonction lactone.

Elle est hydrolysée par l'émulsine. TANRET lui attribue la formule :



ou la formule :



Son indice de réduction enzymolytique doit être environ de 250, soit un peu plus du double de l'indice de la gentiopicroïne.

Selon M. G. TANRET, les extraits obtenus avec les plantes fraîches renferment sensiblement autant de glucoside amorphe que de gentiopicroïne.

D'après les expériences de cet auteur, on doit penser que la gentiamarine provient de l'altération de la gentiopicroïne sous l'influence des ferments que contient la racine de Gentiane.

Ce glucoside amorphe existe-t-il dans la racine avant tout traitement ?

J'ai eu l'occasion, au cours de ce travail, de faire sur la racine de Gentiane fraîche de nombreux essais par la méthode biochimique. Il est recommandé dans cette méthode de faire tomber la plante à essayer dans l'alcool bouillant au fur et à mesure qu'on la coupe, de façon à éviter totalement l'action des ferments. Tous mes essais ont été faits en suivant strictement ces indications. Les extraits alcooliques obtenus ont été épuisés par l'éther acétique qui dissout, selon M. G. TANRET, la gentiopicroïne et la gentiamarine. En faisant agir l'émulsine sur de tels extraits éthéro-acétiques, il doit donc y avoir hydrolyse de ces deux glucosides, et on doit obtenir un indice de réduction bien supérieur à 111, environ de 180 (moyenne entre 111 et 250). Or, l'indice de réduction le plus fort que l'on ait obtenu est 113 : la conclusion qui s'impose est que ces liquides ne renfermaient que de la gentiopicroïne.

Peut-être, la présence de glucoside amorphe dans les extraits éthero-acétiques de M. G. TANRET est-elle due au mode de traitement qu'il fait subir aux racines fraîches pour obtenir l'extrait alcoolique :

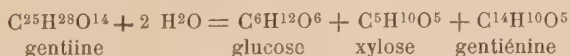
« De la racine de Gentiane, fraîche et mondée, est découpée, pilée grossièrement et jetée aussitôt dans 3 fois son poids d'alcool à 85°. On porte à l'ébullition, puis on retire le feu (1) ».

Il est évident que pendant le broyage de la racine, et même pendant le séjour de la pulpe dans l'alcool froid, qui ne tue les ferments que très lentement et ne les empêche pas d'agir, ces derniers ont transformé une certaine quantité de gentiopictine en produit amorphe. M. G. TANRET a d'ailleurs réalisé, *in vitro*, la même expérience en faisant agir les ferments de la Gentiane sur la gentiopictine.

On doit donc penser que si cet auteur avait fait tomber la racine de Gentiane dans l'alcool bouillant au fur et à mesure qu'il la coupait en tranches, comme l'indiquent MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY dans leur préparation de la gentiopictine, il aurait obtenu uniquement le glucoside cristallisé.

Gentiine. — La gentiine est un glucoside cristallisé découvert par M. G. TANRET, en 1905. Elle existe en très faible quantité, environ 1 pour 100 de la gentiopictine. M. G. TANRET l'a retirée des éthers acétiques d'où ce dernier glucoside avait cristallisé.

La gentiine est à peu près insoluble dans l'eau. Elle n'est pas hydrolysée par l'émulsine. Sous l'influence de l'acide sulfurique à 4 pour 100 elle est hydrolysée en gentiennine, glucose et xylose, d'après l'équation :



C'est le premier glucoside connu qui donne du xylose dans ses produits de dédoublement.

(1) G. TANRET. — *Loc. cit.*, p. 13.

II. — SUCRES.

La racine de Gentiane renferme quatre sucres différents :

Gentianose,
Saccharose,
Glucose,
Lévuiose

et peut-être aussi du gentiobiose, ainsi que nous le verrons par la suite.

Gentianose. — Le gentianose a été découvert en 1882 par Arthur MEYER (1), qui le retira du suc de racine fraîche de Gentiane. Arthur MEYER donne à son produit des propriétés qui font croire qu'il avait obtenu du sucre de canne, notamment le pouvoir rotatoire $\alpha_D = +65^{\circ},7$, et l'hydrolyse par les acides ; seules, deux propriétés, la saveur à peine sucrée et le point de fusion $+210^{\circ}$, se rapportent au gentianose. Il est probable que cet auteur a bien isolé le gentianose, mais qu'il n'a pas toujours expérimenté sur le même principe.

Son travail ne fut repris que 17 ans plus tard. En 1898, MM. BOURQUELOT et NARDIN donnèrent un procédé de préparation du gentianose (2), dont le principe consistait à faire tomber la racine coupée en tranches dans l'alcool bouillant, de façon à éviter l'action des ferments. L'extrait alcoolique obtenu était repris par l'alcool à 95° , d'où le gentianose cristallisait. Son histoire chimique fut définitivement fixée par les travaux de MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY (3).

Le gentianose cristallise à l'état anhydre en lamelles carrées ou rectangulaires. Sa saveur n'est que très peu sucrée.

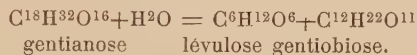
Il est dextrogyre, sans phénomène de multirotation ; $\alpha_D = +31^{\circ},5$. Il fond à $207-209^{\circ}$.

(1) Ueber Gentianose (*Zeitschrift für physiol. Chemie*, VI, p. 135, 1882).

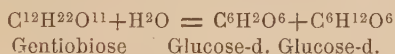
(2) Em. BOURQUELOT et NARDIN. — Sur la préparation du gentianose (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6), VII, p. 289, 1898).

(3) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Sur la constitution du gentianose (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6), XIII, p. 305, 1901).

Le gentianose est un hexotriose, $C^{18}H^{32}O^{16}$, qui, traité à l'ébullition par les acides minéraux étendus, est hydrolysé en donnant une molécule de lévulose et deux molécules de glucose-d. Ce sucre est hydrolysé également par l'invertine, mais seulement en partie ; il se forme du lévulose, les deux molécules de glucose restant combinées sous forme d'un hexobiose, le *gentiobiose*.



Pour obtenir ensuite l'hydrolyse du gentiobiose, c'est-à-dire pour aboutir à l'hydrolyse totale du gentianose, il faut faire intervenir un autre ferment, la gentiobiase qui existe dans l'émulsine des amandes. Cette seconde phase de l'hydrolyse du gentianose peut être exprimée par la réaction suivante :



Gentiobiose. — Le gentiobiose a été obtenu cristallisé par MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY (1).

Pour l'obtenir, on chauffe 30 minutes au bain-marie bouillant une solution de gentianose dans l'acide sulfurique à 2 %₀. Cet acide, à cette dilution, est sans action sur le gentiobiose et agit sur le gentianose comme le ferait l'invertine. Après refroidissement, on neutralise et on évapore en extrait. On reprend l'extrait par l'alcool absolu et l'alcool à 95° à l'ébullition pour éliminer le lévulose. On dissout le résidu dans l'alcool à 90° bouillant, d'où le gentiobiose cristallise.

Les auteurs l'ont encore isolé de la poudre de Gentiane et de l'extrait aqueux, après avoir eu soin de détruire par la fermentation au moyen de la levure, tous les autres sucres, seul le gentiobiose restant inattaqué (2).

Le gentiobiose possède une saveur amère ; c'est le premier exemple d'un sucre amer. Il cristallise dans l'alcool méthylique

(1) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Sur le gentiobiose cristallisé (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6), XVI, p. 417, 1902).

(2) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Les sucres de la poudre et de l'extrait de Gentiane ; préparation du gentiobiose en partant de ces médicaments (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6), XVI, p. 513, 1902).

avec deux molécules d'alcool de cristallisation. Cet alcool méthylique s'élimine par chauffage à 100°. Dans l'alcool éthylique, il cristallise anhydre.

Il fond, anhydre, à +190°-195°. Il est faiblement dextrogyre, $\alpha_D = +9^{\circ}8$, avec birotation ; la solution aqueuse immédiate est lévogyre. Le gentiobiose réduit la liqueur de Fehling à l'ébullition. 1 gr. de gentiobiose réduit comme 0 gr. 617 de glucose.

Il se dédouble en deux molécules de glucose-d quand on le traite à l'ébullition par l'acide sulfurique à 30 %₁₀₀. Le liquide fermentaire de l'*Aspergillus niger* l'hydrolyse également, ainsi que l'émulsine des amandes, par suite de la présence d'un ferment spécial, la *gentiobiase* (1).

MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY n'ont pas trouvé de gentiobiose libre dans la racine fraîche de Gentiane. M. TANRET a décelé sa présence dans des racines cueillies à la fin du mois d'octobre, sans d'ailleurs l'avoir isolé à l'état cristallisé. M. TANRET a pour cela opéré de la façon suivante :

Il a traité un extrait de Gentiane fraîche, épuisé par l'éther acétique, par la phénylhydrazine. Il a formé ainsi les hydrazones des sucres réducteurs (lévulose, glucose, gentiobiose). Ces hydrazones sont solubles dans l'éther acétique. Après évaporation de leur solution dans ce dissolvant, il a décomposé les hydrazones au moyen de l'aldéhyde benzoïque. Finalement, il a obtenu 3 gr. 85 de sucres réducteurs dont le pouvoir rotatoire brut était $\alpha_D = -12^{\circ}8$. Ce mélange réduisait comme 0 gr. 862 de glucose. Par un simple calcul, M. TANRET conclut que la composition pour 100 d'un tel mélange était :

Gentiobiose.....	35
Glucose	30
Lévulose	35

On peut faire ici la même critique qu'à propos de la gentianine : pendant la préparation de l'extrait, l'invertine, contenue dans la racine, a hydrolysé une certaine quantité de gentianose en lévulose et gentiobiose, et c'est ce gentiobiose, formé secondairement, qu'il a retrouvé dans son expérience.

(1) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — *Loc. cit.*

Il est probable, cependant, que la racine fraîche de Gentiane renferme à un certain moment du gentiobiose libre, mais ce serait pendant les mois de mai et de juin, c'est-à-dire au commencement de la végétation, au moment où la Gentiane hydrolyse ses hydrates de carbone, mis en réserve à la fin de l'année précédente (1).

Saccharose. — Le saccharose existe dans la racine de Gentiane, à côté du gentianose, ainsi que l'ont démontré MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY qui, au cours du traitement d'un même extrait, ont obtenu d'abord une cristallisation de gentianose, une cristallisation de saccharose, puis de nouveau une cristallisation de gentianose, suivie d'une nouvelle cristallisation de saccharose et enfin d'une dernière cristallisation de gentianose (2).

Glucose et lévulose. — Ce sont ces deux sucres qui forment les sucres réducteurs que renferme la racine de Gentiane. Leur proportion est assez faible, de 0 gr. 700 à 0 gr. 600, sauf au début de la végétation, époque à laquelle la racine peut en renfermer plus de 2 gr. $\frac{0}{10}$, ainsi qu'on le verra dans un chapitre suivant, p. 42.

III. — PRINCIPES DIVERS.

Tous ces principes ne présentent que peu d'intérêt, au point de vue qui nous occupe à l'heure actuelle. C'est pourquoi je ne ferai que de les énumérer :

Gentisine,
Pectine (3),

(1) Marc BRIDEL. — Variations dans la composition de la racine de Gentiane au cours de la végétation d'une année (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (7), III, p. 294, 1911).

(2) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Sur la présence simultanée de saccharose et de gentianose dans la racine fraîche de Gentiane (*C. R. de l'Ac. des Sciences*, CXXXI, p. 750, 1900).

(3) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Sur la matière gélatineuse (pectine) de la racine de gentiane (*Journ. de Pharm. et de Chim.*, (6), VII, p. 473, 1898).

Tanin,
Matières grasses, cholestérine (1),
Huile essentielle (2),
enfin, M. G. TANRET a signalé des glucosides solubles dans
l'éther et dans le chloroforme (3).

Dans la racine de Gentiane sèche, telle qu'on la trouve dans
le commerce pharmaceutique, la plupart des principes immé-
diats ont disparu.

MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY ont montré qu'elle ne renfer-
mait plus ni gentiopicroine, ni gentianose, ni saccharose. Par
contre, on sait qu'on y trouve du gentiobiose. Cette grande
différence qui existe entre la composition de la racine
fraîche et celle de la racine sèche est due à la fermentation
qu'on fait subir à cette dernière, ainsi que nous l'avons
établi, M. BOURQUELOT et moi. C'est ce travail qui fait le sujet
du chapitre suivant.

(1) G. TANRET. — *Loc. cit.*, p. 59.

(2) PLANCHE. — Sur l'eau-de-vie de gentiane, fabriquée en Suisse, et
observations sur l'eau distillée de cette plante (*Bulletin de Pharmacie*,
VI, p. 551, 1814).

(3) G. TANRET. — *Loc. cit.*, p. 64.

CHAPITRE II.

De l'influence du mode de dessiccation sur la composition de la racine de Gentiane ⁽¹⁾.

Pour établir quelle est la part exacte de la dessiccation dans ce changement de composition, nous avons fait dessécher des racines de Gentiane en évitant toute fermentation, et cela de deux manières différentes : les unes avec précaution, à l'étuve, les autres sans précaution, à la température ordinaire, dans un grenier.

Les racines (2.530 gr.) avaient été récoltées le 13 octobre 1909, à Gérardmer ; elles nous arrivèrent le 14. On en préleva 400 gr. que l'on traita de la façon suivante : on coupa en deux, longitudinalement, toutes les racines, et chaque moitié fut mise à part. On obtint ainsi deux lots de 200 gr. chacun. On traita de suite le premier lot par l'alcool bouillant. On mit le deuxième à sécher à l'étuve à $+ 35^{\circ}$; la dessiccation dura 7 jours ; il y a eu une perte de 69 pour 100 ; la couleur des racines n'avait pas varié.

On mit le reste (2.130 gr.) à sécher dans un grenier à la température ordinaire. La dessiccation dura 2 mois. Les racines ainsi séchées présentaient encore une cassure blanche, semblable à celle des racines fraîches, et non gris rougeâtre comme celle des racines du commerce. Pour les pulvériser, on les mit 24 heures à l'étuve à $+ 35^{\circ}$. Après ce séjour à l'étuve, la perte

(1) Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (7) I, p. 156, 1910).

était également de 69 pour 100. La poudre obtenue présentait une couleur gris-clair ; son odeur rappelait à la fois celle de la Réglisse et celle de la Gentiane ; sa saveur était doucâtre, puis fortement amère, mais d'une amertume assez agréable et différente de l'amertume de la poudre officinale.

Pour nous rendre compte des différences produites, pendant la dessiccation, dans la composition des racines, nous avons essayé, par la méthode à l'invertine et à l'émulsine, les racines fraîches, les racines séchées à l'étuve à $+ 35^{\circ}$, et les racines séchées à la température ordinaire.

Pour les racines fraîches, l'essai a porté sur un extrait en solution aqueuse, dont 100 cm^3 correspondaient à 100 gr. de produit. Pour les racines séchées à l'étuve et à l'air, il a porté sur un extrait dont 100 cm^3 correspondaient à 31 gr. de racines sèches, poids représentant 100 gr. de racines fraîches,

Le tableau suivant résume les résultats obtenus :

Tableau I.

	RACINES fraîches	RACINES séchées à $+ 35^{\circ}$	RACINES séchées à l'air
Rotation initiale ($l = 2$).....	— $3^{\circ}24'$	— $1^{\circ}55'$	— $43'$
— après action de l'invertine.....	— $12^{\circ}43'$	— $10^{\circ}53'$	— $9^{\circ}36'$
— — l'émulsine.....	— $1^{\circ}22'$	— $1^{\circ}16'$	— $2^{\circ}14'$
Sucre réducteur initial.....	0 ^{gr} 600	1 ^{gr} 401	1 ^{gr} 749
— après action de l'invertine	6, 714	7, 099	7, 560
— — l'émulsine	8, 104	8, 251	8, 442
Changement de rotation par l'invertine..	$9^{\circ} 19'$	$8^{\circ} 58'$	$8^{\circ}53'$
Sucre réducteur produit par l'invertine..	6 ^{gr} 114	5 ^{gr} 696	5 ^{gr} 811
Changement de rotation par l'émulsine..	$11^{\circ} 21'$	$9^{\circ} 37'$	$7^{\circ}22'$
Sucre réducteur produit par l'émulsine..	1 ^{gr} 390	1 ^{gr} 152	0 ^{gr} 882

On voit que, au cours de la dessiccation, il y a eu une diminution de la rotation initiale, gauche, en même temps qu'une augmentation de sucre réducteur. On remarquera, en outre, que la quantité de sucre réducteur total (*sucre réducteur après*

action de l'émulsine) est plus forte dans la racine séchée à l'air que dans les deux autres, et que la racine séchée à l'étuve en renferme encore plus que la racine fraîche. Il semble donc qu'il se soit produit, pendant la dessiccation, une certaine quantité d'hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine, aux dépens de composés sur lesquels n'agirait pas ce ferment. Peut-être se produit-il, pendant la dessiccation toujours longue d'une racine, un phénomène analogue à celui qui se passe pendant la maturation des fruits, phénomène que l'on aurait déjà remarqué autrefois pour la racine de betterave conservée à l'air (1).

L'augmentation de la rotation gauche, sous l'action de l'invertine, est à peu près la même dans les trois cas. On peut donc penser que les sucres hydrolysables par ce ferment, saccharose et gentianose, n'ont pas été transformés au cours de la dessiccation. Les retours de la déviation vers la droite sous l'action de l'émulsine sont plus différents ; mais la quantité de sucre réducteur produite pour un retour de 1° est restée sensiblement la même : 0 gr. 122 ; 0 gr. 119 ; 0 gr. 119.

Ce qui indique que les principes dédoublables par l'émulsine sont les mêmes dans la racine fraîche et dans la racine séchée à l'air.

Pour nous rendre compte des différences qui existent entre la composition des racines séchées à l'air ou à l'étuve et celle de la poudre des pharmacies, nous avons essayé celle-ci par la même méthode. Le tableau ci-dessous résume les résultats de nos expériences. La colonne III renferme les résultats publiés en 1902 par MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY (2), qui, déjà à cette époque, avaient essayé une poudre de Gentiane officinale par le même procédé ; 100 cm³ correspondant dans ces essais à 100 gr. de produit sec.

(1) J.-P. BOUDET. — *Bulletin de Pharmacie*, I, p. 77, 1809.

(2) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Les sucres de la poudre et de l'extrait de Gentiane ; préparation du gentiobiose en partant de ce médicament (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) XVI, p. 513, 1902).

Tableau II.

	I RACINES séchées à +35°	II RACINES séchées à l'air	III POUDRE officinale	IV POUDRE officinale
Rotation initiale ($l=2$).....	— 6°11'	— 2°19'	— 2° 5'	+ 32'
— après action de l'invertine.....	—35° 6'	—30°58'	— 6°40'	—40°35'
— — de l'émulsine.....	— 4° 5'	— 7°12'	— 2°45'	— 3°36'
Sucre réducteur initial.....	4 ^{gr} 519	5 ^{gr} 642	10 ^{gr} 85	12 ^{gr} 503
— après action de l'invertine.....	22, 900	24, 387	13, 95	19, 238
— — de l'émulsine.....	26, 616	27, 232	15, 02	20, 845
Changement de rotation par l'invertine.....	28°55'	28°39'	4° 35'	11° 7'
Sucre réducteur produit par l'invertine.....	18 ^{gr} 381	18 ^{gr} 745	3 ^{gr} 10	6 ^{gr} 735
Changement de rotation par l'émulsine.....	31°1'	23°46'	3°55'	6°59'
Sucre réducteur produit par l'émulsine.....	3 ^{gr} 716	2 ^{gr} 845	1 ^{gr} 07	1 ^{gr} 607

Pour l'une des poudres officinales, la rotation initiale se rapproche beaucoup de la rotation initiale du produit séché simplement à l'air; pour l'autre, la rotation initiale est légèrement droite. La différence la plus forte que l'on remarque entre les poudres et les racines se trouve dans le changement de rotation Provoqué par l'émulsine, ainsi que dans les quantités de sucre réducteur produit en même temps que ce changement optique. On trouve, ici, pour un retour de la déviation vers la droite de 1°, 0 gr. 273 et 0 gr. 230, chiffres qui sont de beaucoup supérieurs aux deux autres : 0 gr. 119. On pouvait donc penser que, pendant la fermentation, les glucosides étaient presque totalement décomposés et que ce faible retour vers la droite sous l'influence de l'émulsine pouvait provenir de l'hydrolyse du gentiobiose que la Gentiane des pharmacies renferme en assez grande quantité.

Cette hypothèse pouvait être vérifiée en utilisant la propriété que possède l'éther acétique de dissoudre la plupart des principes glucosidiques sans dissoudre une quantité notable d'hydrates de carbone. C'est d'ailleurs ce procédé qui est préconisé par M. G. TANRET pour l'analyse d'un extrait de Gentiane que l'on divise ainsi en deux parts : d'un côté, les principes glucosidiques, de l'autre, les principes sucrés.

En traitant la poudre par l'éther acétique, on dissoudrait donc uniquement les glucosides, et les sucres : saccharose, gentianeose et gentiobiose, ne passeraient pas en solution.

En conséquence, nous avons fait l'essai suivant sur notre poudre de Gentiane séchée à l'air et sur la poudre officinale.

On a épuisé les poudres par l'éther acétique saturé d'eau ; on a distillé l'éther acétique ; on a repris par l'eau l'extrait obtenu et on a fait agir, directement, l'émulsine sur le liquide ainsi préparé, dont 100 cm³ correspondaient à 100 gr. de poudre.

Voici les résultats de cette expérience :

Tableau III.

	POUDRE de gentiane séchée à l'air	POUDRE officinale IV
Rotation initiale ($l = 2$).....	— 21°11'	-- 3°20'
Sucre réducteur initial.....	0 ^{gr} 612	0 ^{gr} 467
Rotation après action de l'émulsine.....	+ 49'	— 45'
Sucre réducteur après action de l'émulsine..	2 ^{gr} 890	0 ^{gr} 842
Changement de rotation par l'émulsine.....	21°30'	2°35'
Sucre réducteur produit par l'émulsine.....	2 ^{gr} 278	0 ^{gr} 375
Indice.....	106	144

La différence entre la composition des deux poudres apparaît ici nettement. Les principes glucosidiques dédoublables par l'émulsine ont presque entièrement disparu dans la poudre officinale, puisqu'on n'observe plus, sous l'action de ce ferment, qu'un changement de rotation de 2°35', avec formation de 0 gr. 375 de sucre réducteur. De plus, l'indice de réduction enzymolytique que l'on calcule est 145, chiffre assez éloigné de l'indice de la gentiopirine, 111.

Au contraire, ces principes existent en quantité notable dans la poudre préparée avec des racines séchées à l'air.

On constate, en effet, un changement de rotation de 21°30', avec formation de 3 gr. 278 de sucre réducteur : ce qui donne un indice de 106, très rapproché de celui de la gentiopirine.

Extraction du glucoside. — Les indications données par ces recherches nous ont porté à essayer de préparer la gentiopicroïne en partant de cette poudre, c'est-à-dire de la poudre séchée simplement à l'air, sans précautions spéciales. Nous avons employé pour cela deux procédés qui, tous deux, nous ont fourni le glucoside en proportion relativement élevée.

Le premier nécessite moins de manipulations, mais le produit obtenu de premier jet est moins pur. On épuise directement la poudre de Gentiane par l'éther acétique saturé d'eau, dans un appareil de SOXHLET. Par concentration convenable du dissolvant, la gentiopicroïne cristallise.

Le second procédé, qu'il est préférable d'employer dans un laboratoire, est celui que donne M. G. TANRET pour obtenir la gentiopicroïne de la racine fraîche de Gentiane :

On épuise la poudre par de l'alcool bouillant. On évapore à sec le liquide obtenu ; on additionne l'extrait d'environ 17 pour 100 d'eau et on l'épuise par 30 fois son poids d'éther acétique saturé d'eau et bouillant. Il suffit de concentrer cette solution par distillation de l'éther acétique pour obtenir la gentiopicroïne cristallisée, impure, que l'on n'a plus qu'à purifier.

Nous avons obtenu, par ces deux procédés, environ 3 gr. 50 de gentiopicroïne brute pour 100 gr. de poudre, rendement pratiquement avantageux.

La gentiopicroïne, convenablement purifiée et desséchée à l'air, présentait les caractères suivants :

$$\begin{aligned} \text{Pouvoir rotatoire : } \alpha_D &= -196^{\circ},3 \\ (p &= 0,2522 ; v = 15 ; l = 2 ; \alpha = -6^{\circ}36'). \end{aligned}$$

On a ajouté de l'émulsine à la solution ayant servi à prendre le pouvoir rotatoire. Après vingt-quatre heures, la solution accusait une rotation de $+50'$, avec formation de 0 gr. 859 de sucre réducteur pour 100 cm³ ; ce qui donne un indice de réduction enzymolytique de 115 ; (Théorie 111).

Extraction du sucre (1). — Comparons, dans le tableau II, les changements de rotation produits par l'invertine, ainsi que

(1) Marc BRIDEL. — *Journ. de Pharm. et de Chim.* (7), IV, p. 455, 1911).

la quantité de sucre réducteur produit par le même ferment, dans les colonnes II, III et IV. On voit que la fermentation qu'on fait subir aux racines de Gentiane pour obtenir le produit commercial est la cause de l'hydrolyse d'une forte proportion d'hydrates de carbone (saccharose et gentianose). En effet, tandis que la poudre de Gentiane séchée à l'air, sans fermentation, donne, sous l'action de l'invertine, 18 gr. 745 de sucre réducteur pour 100 gr., une poudre officinale n'en donne que 6 gr. 735 et l'autre encore moins, 3 gr. 10 : ce qui représente une diminution d'environ deux tiers pour la première et des cinq sixièmes pour la seconde.

Dans la poudre de Gentiane séchée à l'air, la proportion de ces hydrates de carbone était telle qu'on pouvait songer à en isoler le sucre à l'état cristallisé.

Dans ce but, on a traité un extrait alcoolique, déjà épuisé par l'éther acétique, c'est-à-dire, débarrassé des glucosides, de la façon suivante :

Cet extrait, séché dans le vide, a été additionné d'une certaine quantité d'eau, de façon à obtenir un sirop épais. On a traité ce sirop par l'alcool à 95°, à l'ébullition. On a laissé refroidir et on a décanté, après un repos de plusieurs jours, pour séparer le liquide clair d'un extrait qui s'était déposé. Ce procédé est celui qui avait permis à MM. BOURQUELOT et NARDIN d'isoler le gentianose contenu dans la racine fraîche de Gentiane.

Le liquide clair ainsi obtenu a été amorcé avec du gentianose cristallisé. Malgré cette précaution, et malgré un repos de plusieurs mois, il n'a laissé déposer aucun produit cristallisé.

On l'a alors évaporé à sec, sous pression réduite, et on a traité l'extrait par de l'alcool à 95° bouillant, en employant, à chaque extraction, 100 cm³ de dissolvant. On a fait ainsi quatre extractions.

En quelques jours, il s'est fait, dans les quatre traitements, une cristallisation abondante. On a obtenu 12 gr. d'un produit blanc, sucré, que l'on a purifié en le faisant cristalliser dans l'alcool à 95°.

Le produit ainsi obtenu était pur. Il avait une saveur fortement sucrée ; en solution aqueuse, il ne réduisait pas la liqueur de Fehling, à l'ébullition.

Son pouvoir rotatoire était :

$$\alpha_D = + 65^{\circ},5$$
$$(p = 0 \text{ gr. } 3240; v = 15; l = 2; \alpha = + 2^{\circ}50')$$

Sous l'influence de l'invertine, la rotation a passé à gauche, en même temps que le liquide devenait réducteur.

C'était donc du *saccharose*.

Les liquides alcooliques, après séparation du saccharose cristallisé, ont été évaporés à sec, sous pression réduite. On a repris l'extrait par divers dissolvants; aucun de ces traitements n'a donné de gentianose cristallisé. Peut-être ce sucre finira-t-il par cristalliser. On sait, en effet, que MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY ont obtenu, avec le même extrait de gentiane fraîche des cristallisations successives de gentianose et de saccharose, ainsi qu'on l'a déjà mentionné à la page 27.

En résumé, c'est à la fermentation qu'il faut attribuer la plus grande part dans la profonde différence qui existe entre la composition de la racine fraîche de Gentiane et celle de la racine de Gentiane de commerce, la dessiccation ne produisant que des changements de peu d'importance.

Par une dessiccation convenable, c'est-à-dire conduite comme celle des autres drogues médicamenteuses, on peut facilement obtenir une poudre de Gentiane renfermant encore la presque totalité des principes immédiats ou tout au moins des sucres et des glucosides contenus dans la racine fraîche.

Enfin, une telle poudre peut servir avec avantage à préparer la gentiopicroïne que l'on n'obtenait jusqu'ici que de la racine fraîche.

CHAPITRE III.

Variations dans la composition de la racine de Gentiane au cours de la végétation d'une année ⁽¹⁾.

On a vu précédemment que la racine de Gentiane renferme un certain nombre de principes immédiats, dont les plus connus sont des glucosides et des hydrates de carbone.

Parmi les glucosides, un seul s'y rencontre en quantité suffisante pour permettre son dosage, c'est la gentiopicroine, qui paraît, d'ailleurs, être le seul corps intéressant au point de vue thérapeutique. C'est pourquoi je me suis attaché à étudier les variations qui peuvent se produire, dans la proportion de ce principe, au cours de la végétation. J'ai fait, en même temps, des recherches analogues sur les hydrates de carbone, lesquels peuvent être divisés en deux catégories : les sucres réducteurs, glucose et lévulose, et les sucres hydrolysables par l'invertine, saccharose et gentianose.

Pour effectuer ces différents dosages, j'ai employé la méthode biochimique de M. BOURQUELOT dont le principe a été déjà exposé précédemment.

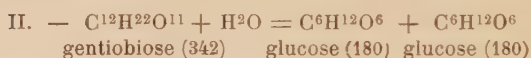
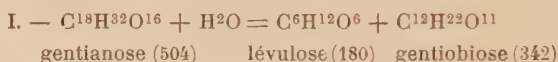
Mais, dans le cas de la racine de Gentiane, le problème se complique par suite de la présence du gentianose :

On a vu, dans le Chapitre I, que, pour obtenir par les ferments l'hydrolyse totale du gentianose, il fallait recourir à

(1) Marc BRIDEL. — *Journ. de Pharm. et de Chim.* (7), III, p. 294, 1911.

l'invertine d'abord, puis à un autre ferment, la *gentiobiase*, qui se rencontre dans l'émulsine des amandes.

Les deux phases de l'hydrolyse peuvent être exprimées par les deux réactions suivantes :



Supposons, maintenant, une solution aqueuse de gentianose renfermant, pour 100 cm³, 5 gr. 04 de ce sucre (5 gr. 04 = le centième de sa molécule) ; cette solution accusera, au tube de 2 dcm., une rotation de :

$$+ \frac{5,04 \times 2 \times 31,5}{100} = + 3^{\circ},17$$

Si, à cette solution, on ajoute de l'invertine, les 5 gr. 04 de gentianose seront peu à peu transformés en 1 gr. 80 de lévulose et 3 gr. 42 de gentiobiase, comme l'indique l'équation I.

La solution accusera alors, à $+ 15^{\circ}$, une rotation de :

$$\text{Lévulose : —} \frac{1,80 \times 2 \times 92,1}{100} = - 3^{\circ},31$$

$$\text{Gentiobiase : +} \frac{3,42 \times 2 \times 9,8}{100} = + 0^{\circ},67$$

Ce qui donne $\alpha = - 2^{\circ},64$.

Si on ajoute ensuite de l'émulsine, les 3 gr. 42 de gentiobiase étant transformés en 3 gr. 60 de glucose (équation II), la rotation de la solution deviendra $+ 0^{\circ},47$.

En un mot, la rotation droite de la solution de gentianose deviendra gauche sous l'influence de l'invertine, puis redeviendra droite sous l'influence de l'émulsine (*gentiobiase*).

Si l'on calcule la quantité de sucre réducteur formé sous l'influence de l'invertine, on trouve 3 gr. 911 pour un recul de 5°,81, soit 0 gr. 673 pour 1° ; ce qui pourrait s'exprimer autrement, en disant que l'indice de réduction enzymolytique du gentianose est 673. Dans les mêmes conditions, on calcule que l'indice fourni par le sucre de canne est 603.

Après l'action de l'émulsine, la proportion de sucre réducteur s'élève à 5 gr. 40. Pour un retour de la déviation de 3°, 11, il s'est formé 1 gr. 489 de sucre réducteur : l'indice de réduction enzymolytique du gentiobiose est, par suite, 478.

Le gentiobiose se comporte donc, sous l'influence de l'émulsine, comme un glucoside hydrolysable par ce ferment (production de sucre réducteur, retour à droite de la déviation) ; et par ce fait même, on ne pourra pas doser directement, dans la racine de Gentiane, le glucoside hydrolysable par l'émulsine, la gentiopicine, puisque les observations polarimétriques représenteront à la fois l'hydrolyse de la gentiopicine et l'hydrolyse du gentiobiose.

Il fallait donc, pour doser la gentiopicine, recourir au procédé que nous avons déjà utilisé, M. BOURQUELOT et moi, et qui repose sur ce fait que l'éther acétique, le meilleur dissolvant du glucoside, ne dissout que des traces d'hydrates de carbone, ainsi que l'avait déjà reconnu, avant nous, M. TANRET.

Dès la réception des racines, arrivant de Gérardmer, c'est-à-dire vingt-quatre heures environ après leur récolte, on en prélevait deux lots semblables de 300 gr. chacun ; un lot était mis à sécher au grenier (l'étude des différents lots desséchés de la sorte se trouve à la fin de ce chapitre) ; l'autre lot était traité ainsi qu'il suit :

On projette les racines (300 gr.) coupées en tranches dans 900 cm³ d'alcool à 85° bouillant ; on fait bouillir à reflux pendant 20 minutes et on laisse refroidir ; après quoi, on décante le liquide, puis on passe les racines au hachoir et on les traite à l'ébullition par 750 cm³ d'alcool à 85°. Après refroidissement, on exprime le produit à la presse et on filtre. On réunit les deux liquides et on distille l'alcool au bain-marie. On filtre le liquide aqueux résiduel que l'on sépare en deux portions : l'une correspondant à 200 gr. de racines, l'autre correspondant à 100 gr. Ces deux parts sont distillées à sec, sous pression réduite, et séparément. On reprend l'extrait correspondant à 200 gr. de racines par une quantité suffisante d'eau thymolée pour obtenir 200 cm³, et, sur le liquide ainsi obtenu, on fait l'essai à l'invertine et à l'émulsine (Essai A).

On traite le deuxième extrait (correspondant à 100 gr. de

racines) par l'éther acétique bouillant, trois fois par 150 cm³ d'éther acétique, en maintenant l'ébullition 20 minutes. On a ainsi obtenu un liquide éthéro-acétique, d'une part, et un extrait insoluble dans l'éther acétique, d'autre part. Cet extrait a été séché dans le vide pour éliminer toute trace d'éther acétique, puis on l'a repris par une quantité suffisante d'eau thymolée pour obtenir 100 cm³ de liquide sur lequel on a fait agir successivement l'invertine et l'émulsine (Essai B).

On a évaporé ensuite à sec l'éther acétique et on a repris l'extrait résiduel par une quantité suffisante d'eau thymolée pour obtenir 100 cm³ ; on a fait agir l'émulsine sur ce liquide renfermant seulement les principes glucosidiques (Essai C).

L'essai B permet le dosage du gentianose : en effet, on a vu plus haut que, dans l'hydrolyse du gentiobiose par l'émulsine, il y a formation de 1 gr. 489 de sucre réducteur pour 3 gr. 42 de gentiobiose, provenant de 5 gr. 04 de gentianose ; la quantité de sucre réducteur formé par l'émulsine servira donc à calculer la quantité de gentiobiose et de gentianose. Pour cela, il suffira de multiplier cette quantité par le chiffre 2,296 pour avoir le gentiobiose hydrolysé et par le chiffre 3,384 pour avoir le gentianose existant originairement dans la racine essayée.

Après avoir calculé de la sorte le gentianose, on pourra calculer, par différence, le saccharose. En effet, on sait que 5 gr. 04 de gentianose produisent, sous l'action de l'invertine, 3 gr. 911 de sucre réducteur ; en multipliant le chiffre représentant le gentianose par 0,776, on aura la quantité de sucre réducteur que produit le gentianose, par l'invertine. On retranchera, alors, le chiffre trouvé du chiffre représentant, dans l'essai, le sucre réducteur produit par l'invertine, et l'on aura le sucre réducteur provenant de l'hydrolyse du saccharose. En multipliant ce nouveau chiffre par 0,95, on aura le saccharose, (3 gr. 60 de sucre réducteur représentent 3 gr. 42 de saccharose).

L'essai C permet le dosage de la gentiopicroïne par le même procédé.

Une molécule de gentiopicroïne, 356, fournit, après hydrolyse par l'émulsine, une molécule de glucose, 180. En multipliant la quantité de sucre réducteur produit par l'émulsine par 1 977,

on obtient la quantité correspondante de gentiopierine. De plus, il est toujours facile de vérifier si le sucre réducteur fourni provient uniquement de la gentiopierine ; il suffit, pour cela, de calculer l'indice de réduction ; on a toujours obtenu un chiffre très voisin, sinon égal à 111, indice de réduction de la gentiopierine pure.

Dans les trois tableaux qui vont suivre, tous les essais ont été faits sur des extraits liquides, aqueux, dont 100 cm³ correspondaient à 100 gr. de racines fraîches.

Le tableau I résume les résultats obtenus dans l'essai A : essai fait d'après la méthode ordinaire à l'invertine et à l'émulsine.

On remarquera, en premier lieu, que la déviation initiale, fortement lévogyre pendant les mois de mai, juin et juillet diminue progressivement jusqu'en octobre. Au contraire, la déviation après l'action de l'invertine est toujours à peu près égale, variant seulement de $-9^{\circ}36'$ à $-12^{\circ}36'$. L'explication de ces faits est facile ; le recul produit sous l'action de l'invertine est de $1^{\circ}30'$ en moyenne dans les trois premiers essais, tandis qu'il est de $10^{\circ}5'$ en moyenne dans les trois derniers. Au mois de mai, la Gentiane commence à pousser : elle consomme ses réserves d'hydrates de carbone ; au mois de juillet, la tige est suffisamment poussée, et la plante recommence à accumuler, dans ses racines, des hydrates de carbone qui lui serviront au printemps suivant. Les sucres ainsi accumulés sont ici du gentianose et du saccharose, corps dextrogyres, et c'est pourquoi l'on constate cette diminution progressive de la déviation initiale gauche, au fur et à mesure de l'accumulation des réserves.

Sous l'action de l'émulsine, le retour de la déviation est assez constant, puisque le chiffre le plus faible est $11^{\circ}17'$ et le chiffre le plus fort $12^{\circ}41'$, la moyenne étant $11^{\circ}50'$. Les indices de réduction sont au contraire assez différents, ce qui est dû à ce que l'émulsine hydrolyse en même temps le gentiobiose et la gentiopierine. L'indice de réduction du gentiobiose étant 478 et celui de la gentiopierine 111, on comprend qu'il suffise d'une faible variation dans la proportion de ces deux

Tableau I. — (Résultats généraux des essais biochimiques).

	24 Mai	3 Juin	23 Juin	13 Juillet	26 Juillet	11 Août	18 Août	17 Septembre	1 ^{er} Octobre	2 Novembre
Déviatiou initiale.....	— 8°34'	— 8°40'	— 7°55'	— 5°55'	— 3°48'	— 1°26'	— 2°29'	— 2°24'	— 1°50'	— 1°36'
— après invertine.....	— 10°14'	— 10°	— 9°36'	— 10° 7'	— 11° 2'	— 11°	— 11°41'	— 12°36'	— 11°17'	— 12°12'
— après émulsion.....	+ 1°16'	+ 1°17'	+ 1°55'	+ 1°12'	+ 48'	+ 53'	+ 19'	+ 5'	+ 29'	0
Sucre réducteur initial.....	2,246	1,328	1,088	0,816	0,711	0,684	0,778	0,619	0,776	0,595
— — après invertine..	4,260	2,541	2,760	4,069	6,262	7,561	7,492	7,659	6,996	7,867
— — après émulsion..	6,720	4,560	4,970	6,144	8,466	9,828	9,776	9,777	9,360	10,351
Recul par invertine.....	1°40'	1°20'	1°44'	4°12'	7°36'	9°34'	9°12'	10°12'	9°27'	10°36'
Sucre réducteur par invertine....	2,014	1,213	1,672	3,253	5,551	6,877	6,714	7,040	6,250	7,272
Retour par émulsion.....	11°30'	11°17'	11°31'	11°19'	12°12'	11°53'	12°	12°41'	11°46'	12°12'
Sucre réducteur par émulsion....	2,460	2,019	2,210	2,075	2,204	2,267	2,284	2,118	2,364	2,484
Indice.....	213	178	200	183	180	190	190	170	200	202

principes pour faire varier fortement l'indice de réduction que l'on observe dans les essais.

La marche de l'hydrolyse par l'émulsine est très rapide durant les premiers jours ; à partir du quatrième ou cinquième jour, elle se ralentit beaucoup et se continue alors très lentement pendant un laps de temps qui peut être parfois de soixante jours. Le tableau suivant qui renferme les résultats détaillés obtenus avec l'essai du 24 mai donne une idée très exacte de cette hydrolyse en deux temps :

	ROTATION du liquide (1 = 2)	SUCRE RÉDUCTEUR contenu dans 100 ^{cm} 3
Avant l'essai.....	— 8°34'	2 gr 246 *
Après l'invertine.....	— 10°14'	4 , 260
Après l'action de l'émulsine pendant :		
2 jours	— 2° 2'	5 , 126
4 —	— 1° 7'	5 , 280
6 —	— 53'	5 , 413
8 —	— 41'	5 , 539
13 —	— 24'	5 , 700
16 —	— 2'	5 , 826
22 —	+ 19'	5 , 947
28 —	+ 48'	6 , 316
36 —	+ 1°12'	6 , 472
47 —	+ 1°16'	6 , 720
52 —	+ 1°16'	6 , 720

L'action rapide des premiers jours correspond à l'hydrolyse de la gentiopicroïne par l'émulsine proprement dite, et l'action lente à l'hydrolyse du gentiobiose par la gentiobiase. En effet, l'indice que l'on calcule après une action de quatre jours est 111, tandis que celui que l'on obtient du quatrième au quarante-septième jour est 604, indice notablement plus fort que celui du gentiobiose, 478.

L'essai A donne déjà des indications précieuses sur la composition de la racine de Gentiane, tout en ne permettant qu'un seul dosage, celui des hydrates de carbone réducteurs. La proportion en est assez faible et à peu près égale à partir du mois de juillet. Dans les mois de mai et de juin, alors que la plante utilise ses réserves, la quantité est bien supérieure, environ trois fois plus forte.

Les tableaux II et III donnent les résultats des deux autres essais. Le tableau II correspond aux essais B, c'est-à-dire aux essais portant sur un extrait débarrassé des glucosides par épuisement à l'éther acétique et ne renfermant plus que les hydrates de carbone. C'est cet essai qui permet le dosage du saccharose et du gentianose.

Le tableau III correspond aux essais C, c'est-à-dire aux essais portant sur un extrait soluble dans l'éther acétique, et ne renfermant que des principes glucosidiques. C'est cet essai qui permet le dosage de la gentiopicroine.

On remarquera de suite (tableau II) l'augmentation progressive de la déviation initiale droite, augmentation corrélative d'une augmentation du recul de la déviation sous l'action de l'invertine.

On voit que c'est au début de juin que la racine de Gentiane renferme le moins d'hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine ; à partir de ce moment, la proportion de ces principes augmente, puis ne varie plus du mois d'août à la fin de la végétation.

En comparant les résultats obtenus dans les deux essais A et B, on voit que le *recul par l'invertine* est toujours plus fort dans l'essai B. Je n'ai pu trouver l'explication de cette différence.

Pour le gentianose, on constate que, dans les mois de mai et de juin, la quantité calculée, comme on l'a fait, au moyen du sucre réducteur produit par l'émulsine, est plus forte que celle que l'on obtient en supposant que tout le sucre réducteur produit par l'invertine provient du gentianose. On trouve, en effet, dans le premier essai, 3 gr. 948 de gentianose, alors que, par l'invertine, il ne s'est formé que 2 gr. 235 de sucre réducteur, quantité provenant de 2 gr. 878 de gentianose. Il en est de

Tableau II. — (*Dosage des hydrates de carbone*).

	24 Mai	3 Juin	23 Juin	13 Juillet	28 Juillet	11 Août	18 Août	17 Septembre	1 ^{er} Octobre	2 Novembre
Déviatiou initiale.....	+ 1° 19'	+ 31'	+ 4° 31'	+ 3° 12'	+ 5° 31'	+ 6° 50'	+ 6° 48'	+ 6° 36'	+ 6° 48'	+ 7° 19'
— après invertine.....	— 1° 50'	— 1° 10'	— 1°	— 1° 48'	— 3° 12'	— 3° 50'	— 3° 38'	— 4° 16'	— 3° 43'	— 3° 34'
— après émulsion.....	+ 34'	+ 31'	+ 50'	+ 5'	— 14'	— 29'	— 38'	— 43'	— 1° 17'	— 43'
Sucre réducteur initial.....	1,731	0,968	0,859	0,603	0,568	0,517	0,601	0,446	0,571	0,440
— après invertine..	3,966	2,281	2,760	3,842	6,003	7,602	7,200	7,526	7,526	8,266
— après émulsion..	5,128	3,086	3,556	4,661	7,131	8,844	8,476	9,072	8,520	9,517
Recul par invertine.....	3° 9'	1° 44'	2° 31'	1° 5'	8° 43'	10° 40'	10° 26'	10° 52'	10° 31'	10° 53'
Sucre réducteur par invertine....	2,235	1,213	1,905	3,259	5,435	7,085	6,619	7,080	6,955	7,826
Retour par émulsion.....	2° 24'	1° 44'	1° 50'	1° 53'	2° 58'	3° 21'	3°	3° 33'	2° 26'	2° 51'
Sucre réducteur par émulsion....	1,467	0,905	0,816	0,819	1,128	1,242	1,276	1,546	0,994	1,251
Gentiobiose.....	2,679	2,077	1,873	1,880	2,589	2,851	2,929	3,569	2,282	2,872
Gentianose.....	3,948	3,062	2,761	2,771	3,787	4,201	4,317	5,231	3,363	4,233
Saccharose.....	?	?	?	1,034	2,372	3,634	3,106	2,869	4,128	4,314

même dans les essais du 3 et du 23 juin, pour lesquels on calcule 3 gr. 062 et 2 gr. 701 de gentianose, alors que, d'après l'action de l'invertine, on ne peut en avoir que 1 gr. 562 et 2 gr. 453. Il est donc probable que, pendant les mois de mai et de juin, époque à laquelle la Gentiane hydrolyse ses hydrates de carbone, elle renferme une certaine proportion de gentiobiose libre.

Quant au saccharose, on ne peut pas dire si la racine de Gentiane en renferme pendant les mois de mai et de juin, la présence du gentiobiose libre ne permettant pas de calculer la quantité de gentianose qui existe à cette époque.

A partir du mois de juillet, la proportion de saccharose augmente progressivement jusqu'au mois de novembre : il y a une faible diminution en août et en septembre, diminution qui correspond à une augmentation de gentianose. La proportion de saccharose subit donc de grandes variations, puisqu'il en existe plus de 4 % au mois de novembre, tandis que, au mois de juillet, il y en a 1 %, et sans doute moins encore durant les mois de mai et de juin.

Sous l'influence de l'émulsine, la marche de l'hydrolyse est plus rapide que dans les essais A, ainsi que le montre le tableau suivant, qui relate les résultats obtenus avec l'essai B, du 24 mai.

		ROTATION du liquide (1 = 2)	SUCRE RÉDUCTEUR contenu dans 100 ^{cm} 3
Avant l'essai.....		+ 1°19'	1 gr 731
Après l'invertine.....		— 1°50'	3 , 966
Après l'action de l'émulsine pendant :	3 jours.....	— 50'	4 , 260
	6 —	— 17'	4 , 500
	9 —	+ 7'	4 , 770
	12 —	+ 26'	4 , 968
	18 —	+ 34'	5 , 138
	24 —	+ 34'	5 , 138

On voit qu'ici l'hydrolyse a duré seulement 18 jours au lieu de 47, dans l'essai portant sur un extrait renfermant la totalité des principes de la plante. Il est possible qu'après l'hydrolyse de la gentiopicine, la gentiogénine formée ait une action retardatrice assez marquée sur les hydrolyses produites ultérieurement par l'émulsine. Cette hypothèse expliquerait pourquoi le même ferment a besoin d'un laps de temps double pour hydrolyser la même quantité de gentiobiose, suivant la présence ou l'absence de gentiogénine dans les liquides où se produit la réaction.

Le tableau III montre que le glucoside que l'on hydrolyse dans ces essais est uniquement de la gentiopicine, étant donnés les indices que l'on obtient, dont le plus éloigné diffère à peine de l'indice théorique (113 au lieu de 111). La gentiopicine existe en proportions notables pendant toute la végétation; les différences que l'on observe sont tout à fait minimales, la plus faible proportion étant de 1 gr. 959, la plus forte de 2 gr. 376 et la moyenne de 2 gr. 140.

On peut dire, toutefois, que la gentiopicine existe en proportion plus forte pendant les mois de juin et de juillet.

En résumé, la composition de la racine de *Gentiane subit*, pendant une végétation annuelle, des variations assez fortes, surtout si on envisage les hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine.

Pour ce qui est de la gentiopicine, en effet, les variations sont beaucoup moindres et l'on peut dire que la racine de *Gentiane* renferme toujours au moins 2 % de ce glucoside.

La proportion pour 100 des hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine varie de 2 gr. 213 au début de la végétation, à 7 gr. 826 à la fin de la végétation. Le gentianose existe toujours dans une proportion de 3 à 5 %, sauf pendant les mois de mai et de juin, pendant lesquels la racine de *Gentiane* renferme du gentiobiose. C'est pendant les mois d'août et de septembre qu'il y a le plus de gentianose, et il faut noter que c'est justement à cette époque que MM. BOURQUELOT et NARDIN ont traité la racine de *Gentiane* pour avoir ce sucre.

C'est donc le saccharose qui subit les plus grandes variations; il s'accumule dans la racine à la fin de la végétation, et

Tableau III. — (Dose de la gentiopierine).

	24 Mai	3 Juin	23 Juin	13 Juillet	26 Juillet	11 Août	18 Août	17 Septembre	1 ^{er} Octobre	2 Novembre
Déviatiou initiale.....	— 8°14'	— 8°45'	— 9°52'	— 9°10'	— 9°24'	— 8°24'	— 9° 5'	— 8°24'	— 8°36'	— 8°43'
Déviatiou après émulsion.....	+ 38'	+ 36'	+ 53'	+ 55'	+ 53'	+ 46'	+ 55'	+ 53'	+ 4° 4'	+ 48'
Sucre réducteur initial.....	0,283	0,327	0,292	0,214	0,168	0,139	0,167	0,274	0,180	0,188
Sucre réducteur après émulsion..	1,274	1,374	1,494	1,365	1,312	1,165	1,292	1,295	1,248	1,242
Retour par émulsion.....	8°52'	9°21'	10°45'	10° 5'	10°17'	9°10'	10°	9°17'	9°40'	9°31'
Sucre réducteur par émulsion....	0,991	1,047	1,202	1,151	1,144	1,026	1,125	1,021	1,068	1,054
Gentiopierine	1,959	2,069	2,376	2,275	2,261	2,038	2,224	2,018	2,111	2,083
Indices.....	111	111	111	113	111	111	112	110	110	110

disparaît, ainsi d'ailleurs que la plus grande partie du gentianeose, au début du printemps, à la reprise de la végétation.

Composition de la racine sèche. — On a vu plus haut qu'à chaque envoi de racine de Gentiane, un lot de 300 gr. était mis à sécher au grenier. La dessiccation a demandé de 1 à 2 mois, suivant l'époque à laquelle elle a eu lieu. Chaque lot a été pesé après dessiccation : on a déterminé le poids de matière sèche pour 100. On a pulvérisé ensuite les racines et on a obtenu, à chaque opération, un produit faiblement coloré, en tous points semblable à celui dont il a été question au Chapitre II (page 30).

On a pesé, alors, un poids de poudre correspondant à 300 gr. de racines fraîches.

A 900 cm³ d'alcool à 85°, on a ajouté une certaine quantité d'eau qui, pour chaque essai, représentait le poids de l'eau perdue par la plante pendant la dessiccation. On a porté ce mélange à l'ébullition et on y a fait tomber la poudre préalablement pesée. On a fait bouillir à reflux pendant 20 minutes et on a laissé refroidir ; après quoi, on a décanté le liquide et on a traité la poudre par 750 cm³ d'alcool à 85°, à l'ébullition. On a continué l'opération comme il est dit pour la racine fraîche (page 39), ce qui a donné finalement les trois séries d'essais A, B. et C.

Ici, 100 cm³ de liquide ainsi obtenu ne correspondaient pas à 100 gr. de poudre, mais au poids de poudre représentant 100 gr. de racines fraîches.

De la sorte, les résultats consignés dans les trois tableaux suivants sont en tous points comparables avec ceux que l'on trouve dans les trois tableaux précédents.

Le tableau IV résume les résultats obtenus dans l'essai A, essai fait d'après la méthode ordinaire à l'invertine et à l'émulsine.

On voit d'abord, en examinant ce tableau, que la proportion de matière sèche varie avec les époques de la végétation, puisqu'on en trouve 18,46 % au mois de juin et 30,37 % au mois de septembre. En somme, au début de la végétation, la racine de Gentiane renferme environ 80 % d'eau, et à la fin de la végétation, elle n'en contient plus qu'environ 70 %.

Tableau IV. — *Résultats généraux des essais biochimiques.*

	24 Mai	3 Juin	23 J u	13 Juillet	26 Juillet	11 Août	18 Août	17 Septembre	1 ^{er} Octobre	2 Novembre
Matière sèche pour 100.....	22	20	18,46	21,4	25	21,21	29,86	30,37	27,33	28,33
Déviatiôn initiale.....	— 2°53'	— 4°26'	— 3°12'	— 3° 5'	— 48'	— 48'	+ 43'	+ 2°14'	0	— 34'
— après invertine.....	— 6° 5'	— 6°19'	— 4°58'	— 6°	— 6°43'	— 6°14'	— 8°29'	— 9° 2'	— 8° 9'	— 8°38'
— après émulsion.....	+ 1° 2'	+ 1°17'	+ 1° 2'	+ 38'	+ 29'	+ 38'	+ 2°13'	+ 20'	+ 10'	+ 24'
Sucre réducteur initial	2,187	1,905	1,514	1,680	1,600	1,332	1,300	1,887	1,608	1,567
— réducteur après invertine..	4,531	3,289	2,842	4,017	5,796	5,317	6,638	9,226	7,016	6,882
— réducteur aprèsémulsion..	5,760	4,464	3,795	5,188	7,258	6,828	8,996	11,164	8,778	8,566
Recul par invertine.....	3°10'	1°53'	1°46'	7°55'	2°55'	5°26'	7°26'	11°16'	8° 9'	8° 4'
Sucre réducteur par invertine..	2,344	1,384	1,328	2,337	4,196	3,985	5,338	7,339	5,408	5,315
Retour par émulsion.....	7° 7'	7°36'	6°	6°38'	7°12'	6°52'	10°42'	9°22'	8°19'	9° 2'
Sucre réducteur par émulsion...	1,229	1,175	0,954	1,171	1,462	1,511	2,358	1,938	1,762	1,774
Indices.....	173	154	159	176	203	220	220	207	212	196

En comparant ces résultats avec ceux du tableau I, on constate que toutes les déviations initiales gauches ont subi un recul plus ou moins fort vers la droite, recul qui peut atteindre plus de 5 degrés, comme dans l'essai du 24 mai, par exemple. La déviation initiale reste cependant gauche, sauf dans le 9^e essai, où elle est nulle, et dans le 8^e essai, où elle a passé à droite.

La quantité de sucre réducteur initial a augmenté, sauf dans le premier essai où elle est restée sensiblement la même : 2 gr. 187 au lieu de 2 gr. 246.

Le recul produit par l'invertine a diminué dans 6 essais (13, 26 juillet, 11, 18 août, 1^{er} octobre, 2 novembre); la diminution la plus forte est de 4°8', dans l'essai du 11 août.

Dans les quatre autres essais (24 mai, 3, 23 juin et 17 septembre), le recul a augmenté. L'augmentation la plus forte est de 1°30', dans l'essai du 24 mai.

On voit nettement que, d'après ces quatre derniers essais, l peut se produire, pendant la dessiccation, une certaine quantité d'hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine aux dépens de composés sur lesquels n'agirait pas ce ferment, ainsi que nous avons déjà eu l'occasion de le signaler, M. BOURQUELOT et moi, au cours de notre travail sur la dessiccation de la racine de Gentiane, en 1910 (1).

M. LESUEUR a retrouvé, par la suite, des augmentations de même ordre, notamment pendant la dessiccation de la racine d'Aconit. Dans ce cas, il a trouvé une augmentation du recul de la déviation sous l'influence de l'invertine de 9°41' (2).

Sous l'action de l'émulsine, le retour de la déviation a diminué dans tous les essais, mais la diminution n'est pas égale pour tous. La plus faible diminution est de 1°18', dans l'essai du 18 août, et la plus forte de 5°31', dans l'essai du 23 juin. De plus, tandis qu'avec la racine fraîche, le retour obtenu dans tous les essais était assez constant, le plus grand écart était de 1°34', ici on constate un écart de 4°42'.

Par contre, les indices de réduction enzymolytiques sont

(1) Voir : chapitre II, page 31.

(2) LESUEUR. — Influence du mode de préparation sur la composition et la stabilité des alcoolatures et des teintures. Stérilisation par l'alcool. Racine d'Aconit (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (7) I, p. 432, 1910).

Tableau V. — (Dosage des hydrates de carbone).

	24 Mai	3 Juin	23 Juin	13 Juillet	26 juillet	14 Août	18 Août	17 Septembre	4 ^{er} Octobre	2 Novembre
Déviatiou initiale.....	+ 2°14'	+ 1°36'	+ 1°41'	+ 2°29'	+ 4°58'	+ 4°29'	+ 6° 9'	+ 8°	+ 6°10'	+ 5°46'
— après invertine	— 58'	— 26'	— 29'	— 58'	— 2°19'	— 1°55'	— 3°18'	— 4°19'	— 2°48'	— 2°29'
— après émulsion.....	+ 41'	+ 3'	+ 53'	+ 48'	+ 34'	+ 19'	0	— 5'	— 9'	— 19'
Sucre réducteur initial.....	1,632	1,418	1,158	1,348	1,468	1,165	1,471	1,719	1,314	1,242
— après invertine.	3,736	2,685	2,569	3,593	6,327	5,574	7,388	9,440	6,720	6,648
— après émulsion.	4,470	3,133	3,072	4,278	7,588	6,530	8,852	11,428	7,959	7,621
Recul par invertine.....	3°12'	2° 2'	2°10'	3°27'	7°17'	6°24'	9°27'	12°19'	8°58'	8°15'
Sucre réducteur par invertine...	2,104	1,267	1,411	2,245	4,859	4,409	5,917	7,721	5,406	5,406
Retour par émulsion.....	1°39'	1° 2'	1°22'	1°46'	2°53'	2°14'	3°18'	4°14'	2°39'	2°10'
Sucre réducteur par émulsion..	0,734	0,448	0,503	0,665	1,261	0,956	1,464	1,988	1,239	0,973
Gentiobiose.....	1,685	1,028	1,154	1,526	2,895	2,194	3,341	4,564	2,644	2,234
Gentianose.....	2,483	1,516	1,702	2,250	4,267	3,235	4,954	6,727	4,192	3,292
Saccharose.....	0,169	0,109	0,086	0,474	1,470	1,804	1,969	2,375	2,046	2,804

restés sensiblement ce qu'ils étaient dans les essais faits sur la racine fraîche. La marche de l'hydrolyse par l'émulsine est également la même; elle est très rapide dans les premiers jours, puis se continue très lentement. C'est ainsi que dans l'essai du 24 mai, on a constaté, dans les quatre premiers jours de l'hydrolyse, un retour à droite de $5^{\circ}17'$, avec formation de 0 gr. 763 de sucre réducteur, ce qui donne un indice de 144; l'hydrolyse s'est ensuite continuée pendant 36 jours; on a constaté, dans cette seconde période, un retour à droite de $1^{\circ}50'$ avec formation de 0 gr. 474, ce qui donne un indice de 258.

Le tableau V est à comparer avec le tableau II; comme lui, il correspond aux essais B, c'est-à-dire aux essais portant sur un extrait débarrassé des glucosides par épuisement à l'éther acétique et ne renfermant que les hydrates de carbone.

On a déjà vu qu'avec la racine fraîche, on obtenait dans les essais B un *un recul par l'invertine* toujours plus fort que dans les essais A correspondants; on retrouve, avec la racine sèche, cette même différence, qui va jusqu'à $2^{\circ}1'$ dans l'essai du 11 août.

On doit faire remarquer que les quantités de gentianose et de saccharose que l'on a déduites de la quantité de sucre réducteur produit par l'émulsine, dans chaque essai, ainsi qu'il est dit page 40, sont de peu de valeur. En effet, on sait que, pendant la dessiccation, il se produit, dans la racine de Gentiane, une certaine quantité de gentiobiose libre, aux dépens du gentianose, ainsi que l'ont montré MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY. Or, ce gentiobiose, existant libre dans la racine sèche, sera hydrolysé par l'émulsine en même temps que celui qui aura été produit, dans l'essai, sous l'action de l'invertine. Comme on calcule la quantité de gentianose en s'appuyant sur la quantité de sucre réducteur produit par l'émulsine, il en résultera que l'on trouvera une proportion de gentianose supérieure à celle qui existe réellement dans la racine, et que la proportion de saccharose s'en trouvera diminuée.

On peut donc dire que dans tous ces dosages il y a excès de gentianose et défaut de saccharose, sans qu'il soit possible de déterminer la proportion exacte de chacun de ces sucres.

Tableau VI. — Dosage de la gentiopicroïne.

	24 Mai	3 Juin	23 Juin	13 Juillet	26 Juillet	11 Août	18 Août	17 Septembre	1 ^{er} Octobre	2 Novembre
Déviati on initiale.....	— 4°53'	— 5°55'	— 4°50'	— 5°40'	— 5°38'	— 5°	— 7°	— 5°31'	— 6°14'	— 6°22'
Déviati on après émulsion.....	+ 22'	+ 26'	+ 31'	+ 22'	+ 29'	+ 31'	+ 29'	+ 33'	+ 31'	+ 26'
Sucre réducteur initial.....	0,423	0,435	0,332	0,379	0,281	0,274	0,373	0,255	0,306	0,264
Sucre réducteur après émulsion.	1,023	1,140	0,942	1,069	0,960	0,924	1,194	0,936	1,044	1,004
Retour par l'émulsion.....	5°15'	6°21'	5°21'	6°2'	6° 7'	5°31'	7°29'	6° 66'	6°45'	6°48'
Sucre réducteur par l'émulsion..	0,600	0,705	0,610	0,690	0,689	0,650	0,821	0,681	0,738	0,740
Gentiopicroïne.....	1,186	1,393	1,204	1,364	1,362	1,285	1,623	1,346	1,459	1,462
Indice.....	114	111	112	114	112	117	109	111	109	109
Perte de gentiopicroïne pour 100..	39,45	32,67	40,90	40,04	39,76	36,63	27,02	33,30	30,88	29,81

Néanmoins, il est possible de tirer de ces chiffres quelques indications : dans les trois premiers essais faits avec la racine fraîche, la quantité de gentianose que l'on calcule est plus forte que celle que l'on obtient en supposant que tout le sucre réducteur produit par l'invertine provient de gentianose; dans les trois essais correspondants du tableau V, on voit qu'il n'en est plus de même.

La quantité de gentiobiose libre existant dans la racine fraîche a donc dû diminuer notablement pendant la dessiccation.

La proportion de gentiobiose a augmenté dans 4 essais (26 juillet, 18 août, 17 septembre, 1^{er} octobre). L'augmentation la plus forte, 0 gr. 995, se rencontre dans l'essai du 17 septembre. Comme on a constaté justement dans cet essai une augmentation de la proportion des hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine, on est amené à penser qu'il peut y avoir une relation entre ces deux augmentations : il se serait donc fabriqué du gentianose au cours de cette dessiccation.

On doit faire remarquer, tout d'abord, que le glucoside que l'on hydrolyse dans ces essais (Tableau VI) est uniquement de la gentiopicroine. Les indices de réduction que l'on obtient sont tous très voisins de l'indice théorique : 111.

Cette remarque a d'ailleurs déjà été faite à propos du dosage de la gentiopicroine dans les racines fraîches.

La racine de Gentiane, pas plus à l'état sec qu'à l'état frais, ne renferme donc de gentiamarine. En effet, si ce glucoside avait existé, on l'aurait obtenu à côté de la gentiopicroine dans tous ces essais; il aurait donc été hydrolysé en même temps qu'elle par l'émulsine. L'indice de réduction enzymolytique de la gentiamarine étant voisin de 250, une faible proportion de ce glucoside aurait suffi pour élever notablement l'indice que l'on obtient dans les essais. Cet indice ayant toujours été voisin de 111, sinon égal à 111, on doit conclure que la gentiamarine n'existe pas dans la plante, et qu'elle se forme au cours de la préparation employée par M. G. TANRET, ainsi que j'ai déjà eu l'occasion de le faire remarquer dans le Chapitre I (page 23).

Pendant la dessiccation, il y a eu diminution de la proportion de gentiopicroine. Cette diminution est variable suivant les épo-

ques de l'année. La perte la plus forte est de 40,90 %; elle a lieu au mois de juin, et la plus faible est de 27,02 %, au mois d'août.

Si maintenant on calcule, d'après ces résultats, la quantité de gentiopicroine renfermée dans 100 gr. de racines sèches, on trouve les chiffres suivants :

ESSAIS du	GENTIOPICRINE contenue dans 100 gr. de racines sèches	ESSAIS du	GENTIOPICRINE contenue dans 100 gr. de racines sèches
24 mai.....	5 gr., 390	11 août.....	6 gr., 058
3 juin.....	6, 965	18 août.....	5, 546
23 juin.....	6, 522	17 septembre....	4, 432
13 juillet.....	6, 373	1 ^{er} octobre.....	5, 335
26 juillet.....	5, 448	2 novembre. ...	5, 161

On voit, en examinant ce tableau, qu'en desséchant avec soin la racine de Gentiane, on obtient, à n'importe quelle époque de l'année, un produit qui renferme toujours une forte proportion de gentiopicroine.

C'est au début du mois de juin que la teneur en glucoside est la plus élevée. Elle s'élève à 6 gr. 965 %. C'est au commencement de la végétation que l'on devrait récolter la Gentiane afin d'avoir un produit très riche en principes glucosidiques.

En résumé, les essais A et B effectués sur des racines séchées à l'air, sans fermentation, nous montrent que, quelle que soit l'époque de la récolte, on obtient toujours un produit qui renferme la majeure partie des hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine, ainsi que nous l'avions déjà reconnu M. BOURQUELOT et moi, en traitant des racines récoltées au mois d'octobre.

La racine fraîche de Gentiane renferme de 70 à 82 % d'eau ; elle en renferme le plus en mai et en juin, au moment de la reprise de la végétation.

Pendant la dessiccation à l'air, il y a une perte de gentiopicroïne qui s'élève de 33 à 40 $\frac{0}{0}$, mais la proportion de glucoside qui reste est encore de 5 à 6 $\frac{0}{0}$, en moyenne ; elle peut même atteindre 6 gr. 965 dans les racines arrachées au début du mois de juin.

On doit récolter la racine de Gentiane au commencement de la végétation, dans la première quinzaine du mois de juin.

En opérant ainsi et en supprimant la fermentation qu'on lui fait subir sans aucune raison, pendant la dessiccation, on obtiendrait un produit commercial qui renfermerait jusqu'à 7 $\frac{0}{0}$ de gentiopicroïne.

DEUXIÈME PARTIE.

Etude des préparations galéniques de la racine de Gentiane.

CHAPITRE PREMIER.

Composition des teintures préparées à chaud et à froid, avec de l'alcool à 60°.

Ainsi donc, la cause de la disparition totale de la gentiopirine dans la racine sèche du commerce, c'est la fermentation que l'on fait subir aux racines fraîches, au cours de la dessiccation, dans le but de leur donner la teinte rougeâtre exigée par les Pharmacopées.

En opérant la dessiccation à l'air, il est possible d'obtenir un produit renfermant encore la plus grande partie des principes immédiats, ou tout au moins des sucres et des glucosides contenus dans la racine fraîche.

La question se posait alors de savoir si, avec une racine de Gentiane desséchée de la sorte, on pourrait obtenir des préparations galéniques qui renfermeraient les principes qui étaient

restés inaltérés après la dessiccation. C'est pour répondre à cette question que j'ai préparé conformément aux indications du Codex de 1908 les médicaments à base de Gentiane, inscrits dans la Pharmacopée.

Au cours de ce travail, j'ai été amené à préparer en plus la teinture et l'extrait par d'autres procédés, ainsi qu'on le verra plus loin.

Pour toutes ces préparations, il me fallait une assez grande quantité de matière première, de façon à opérer toujours avec un même produit. C'est pourquoi, en novembre 1910, je me suis fait expédier, de Gérardmer, 30 kilogrammes de racines fraîches de Gentiane.

Ces racines ont été séchées à l'air, au grenier, en opérant ainsi qu'il est dit : Chapitre II, page 27.

La dessiccation a duré 2 mois; on l'a terminée par un séjour de 24 heures à l'étuve à $+ 35^{\circ}$. On a obtenu ainsi 8.500 gr. de racines sèches. On en a prélevé 3.000 gr. que l'on a pulvérisés, et passés au tamis n° 9.

La poudre présentait tous les caractères de celle que nous avions déjà préparée de la même façon, M. BOURQUELOT et moi (Voir Chapitre II) :

« Elle présentait une couleur gris clair; son odeur rappelait à la fois celle de la Réglisse et celle de la Gentiane; sa saveur était douceâtre puis fortement amère, mais d'une amertume assez agréable et différente de l'amertume de la poudre officielle. »

C'est avec ces trois kilogrammes de poudre que l'on a fait toutes les préparations qui font le sujet de ce travail; en opérant ainsi, on comprend que les résultats que l'on a obtenus en analysant chaque préparation soient en tous points comparables.

Les analyses ont toutes été faites suivant un même procédé, qui est d'ailleurs celui que l'on a déjà employé : traitement par l'éther acétique, ce qui amène la séparation en deux extraits dont l'un renferme les sucres et l'autre les glucosides; puis application de la méthode biochimique de M. BOURQUELOT à chacun de ces extraits.

En donnant ici l'analyse détaillée de la poudre, il sera inutile de revenir sur cette même opération pour chaque médicament: on prend 10 gr. de poudre que l'on fait tomber avec précaution dans 200 cm³ d'alcool à 60° bouillant; on maintient l'ébullition pendant 20 minutes et on laisse refroidir; après quoi, on décante le liquide et on épuise le marc par 100 cm³ d'alcool à 60° bouillant. On presse et on filtre après avoir réuni les deux liquides; on évapore ensuite à sec, sous pression réduite.

L'extrait obtenu, qui pèse environ 5 gr. est épuisé par l'éther acétique à l'ébullition, en employant, en 3 fois, 150 cm³ de dissolvant. On réunit les trois traitements et on les évapore à sec, sous pression réduite. On obtient ainsi un extrait amer, renfermant les glucosides, que l'on reprend par quantité suffisante d'eau thymolée pour faire 50 cm³ de liquide, dans lequel on dose la gentiopicroine à l'aide de l'émulsine.

D'autre part, on sèche, dans le vide, l'extrait insoluble dans l'éther acétique et qui renferme les sucres; on le reprend par quantité suffisante d'eau thymolée pour obtenir 100 cm³ de liquide, dans lequel on dose les hydrates de carbone à l'aide de l'invertine, puis de l'émulsine.

Pour les autres médicaments, l'opération est exactement la même; avec les teintures, on a mesuré 50 cm³ que l'on a évaporé à sec, sous pression réduite, et on a traité l'extrait par l'éther acétique; avec les extraits, on a pesé exactement 5 gr. que l'on a traités de la même façon; avec le sirop, on a pesé 200 gr. que l'on a évaporés à sec; avec le vin, on a pesé de même 200 gr. que l'on a évaporés à sec.

Il est ensuite facile de ramener les résultats, à un liquide dont 100 cm³ correspondraient :

- pour la poudre, à 100 gr. de poudre;
- pour la teinture, à 100 cm³ de teinture;
- pour l'extrait, à 10 gr. d'extrait;
- pour le sirop, à 400 gr. de sirop;
- pour le vin, à 400 gr. de vin.

Pour les deux derniers, cette concentration est nécessaire, étant donnée la faible quantité de Gentiane qui entre dans leur préparation: on obtient environ 3.500 gr. de sirop en partant

de 100 gr. de Gentianè, et on fait 1.000 gr. de vin avec 30 gr.

Les tableaux suivants résument les résultats de l'analyse de la poudre.

Rappelons qu'ici 100 cm³ correspondent à 100 gr. de poudre.

Le premier tableau correspond à l'essai de l'extrait sucré et le second à l'essai de l'extrait glucosidique.

Tableau I. — Sucre.

	ROTATION du liquide (1 = 2)	SUCRES RÉDUCTEURS EXPRIMÉS en glucose	
		contenus dans 100 cm ³	formés pour 100 gr. de poudre
Avant l'essai.	+ 20°20'	4 gr.,384	»
Après l'invertine .	— 8°46'	23, 466	19 gr. 082 pour recul de 29°,6'
Après l'émulsine .	— 1° 8'	26, 900	3 gr. 434 pour retour de 7°,38'

L'indice que l'on calcule après l'action de l'invertine est 655, chiffre intermédiaire entre l'indice du saccharose 603 et celui du gentianose 673.

Celui que l'on calcule après l'action de l'émulsine est 449, assez voisin de celui du gentiobiose 478. La quantité de sucre réducteur produit par l'émulsine correspond à 7 gr. 885 de gentiobiose hydrolysé.

Tableau II. — Gentiopirine.

	ROTATION du liquide (1 = 2)	SUCRES RÉDUCTEURS EXPRIMÉS en glucose	
		contenus dans 100 cm ³	formés pour 100 gr. de poudre
Avant l'essai.	— 22°28'	0 gr.,931	»
Après l'émulsine .	+ 1°32'	3, 544	2 gr. 613 pour retour de 24°

Sous l'action de l'émulsine, on obtient un indice de 109, chiffre très rapproché de celui de la gentiopicroine, 111. La poudre analysée renfermait donc 5 gr. 166 de gentiopicroine.

La dessiccation de la racine avait été bien conduite, et on avait un produit dont la composition se rapprochait beaucoup de celui précédemment obtenu, dont il a déjà été question plus haut.

D'après les chiffres du tableau de la page 33, la poudre essayée à cette époque renfermait 4 gr. 202 de gentiopicroine.

Teintures à froid et à chaud. — La teinture à froid a été faite conformément aux indications du Codex de 1908, c'est-à-dire par macération (10 jours), en employant 500 gr. d'alcool à 60° pour 100 gr. de racines.

La teinture à chaud a été faite en respectant les poids d'alcool et de drogue, mais en opérant ainsi qu'il suit :

On a porté d'abord l'alcool à l'ébullition, puis on a projeté, dans l'alcool bouillant, la poudre de Gentiane, sans interrompre l'ébullition ; on a fait bouillir à reflux pendant 20 minutes, puis on a laissé refroidir. On a laissé en contact pendant 10 jours, en agitant de temps en temps, avant d'exprimer à la presse et de filtrer.

La coloration des deux teintures est la même ; celle de la teinture à chaud est cependant un peu plus foncée que celle de la teinture à froid.

On a fait l'analyse de ces deux teintures comme il est dit plus haut, ainsi que l'analyse d'une teinture préparée avec la racine de Gentiane officinale, conformément aux indications du Codex.

Dans le tableau III on trouvera les résultats de l'analyse de l'extrait sucré obtenu avec ces 3 teintures, et dans le tableau IV, les résultats de l'analyse de l'extrait glucosidique ; 100 cm³ d'extrait correspondent, ainsi qu'on l'a dit plus haut, à 100 cm³ de teinture.

Tableau III.

	TEINTURE à chaud	TEINTURE à froid	TEINTURE officinale
Déviatiun initiale.....	+ 3°55'	+ 3°26'	+ 2°19'
Déviatiun après invertine.....	— 1°50'	— 1° 7'	— 1°19'
Déviatiun après émulsine.....	0	+ 9'	+ 38'
Sucre réducteur initial.....	0 ^{re} 772	1 ^{re} 392	1 ^{re} 797
Sucre réducteur après invertine.	4 ^{re} 159	4 ^{re} 380	4 ^{re} 022
Sucre réducteur après émulsine.	5 ^{re} 132	5 ^{re} 227	4 ^{re} 920
Recul par invertine.....	5°45'	4°33'	3°38'
Sucre réducteur par invertine..	3 ^{re} 387	2 ^{re} 988	2 ^{re} 225
Indice.....	589	656	612
Retour par émulsine.....	1°50'	1°16'	1°57'
Sucre réducteur par émulsine..	0 ^{re} 973	0 ^{re} 847	0 ^{re} 898
Indice.....	530	669	460
Gentiobiose.....	2 ^{re} 234	1 ^{re} 944	2 ^{re} 061

En examinant ce tableau, on voit qu'au point de vue des hydrates de carbone, la composition de ces trois teintures est assez semblable. C'est cependant la teinture à chaud qui renferme le plus d'hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine. Comme la teinture à froid en renferme une quantité plus faible, et que d'un autre côté, elle contient plus de sucre réducteur initial, on est amené à penser que c'est pendant la macération qu'a eu lieu l'hydrolyse d'une certaine proportion d'hydrates de carbone.

C'est également dans la teinture à chaud que l'on trouve le plus fort retour par l'émulsine (sans tenir compte de la teinture officinale qui a été préparée avec une racine de Gentiane de provenance inconnue).

Au cours de l'hydrolyse par l'émulsine, on a constaté un fait assez curieux et qui mérite d'être signalé.

Si on calcule, pour la teinture à chaud et pour la teinture à froid, l'indice de réduction enzymolytique, on trouve 530 et 669 : les deux indices sont donc très différents.

Cette différence vient de ce que, dans la teinture à froid, on a observé, vers la fin de l'hydrolyse, une augmentation de sucre réducteur sans que la déviation ait changé, et il peut même arriver que cette augmentation de sucre réducteur soit corrélative d'un *recul* de la déviation vers la gauche de quelques minutes.

On a d'ailleurs retrouvé le même fait, mais bien plus net, au cours de l'hydrolyse de la teinture officinale. Les chiffres qui figurent au tableau ont été obtenus après avoir fait agir l'émulsine pendant 25 jours ; en laissant l'action se continuer pendant encore 25 jours, on a observé que la déviation du liquide était devenue gauche (elle avait passé de $+ 38'$ à $- 9'$) et que la quantité de sucre réducteur avait passé de 4 gr. 920 à 4 gr. 998 : soit un recul de la déviation vers la gauche de $47'$ et formation de 0 gr. 078 de sucre réducteur.

Un recul de la déviation vers la gauche sous l'influence de l'émulsine n'a été constaté jusqu'ici qu'au cours de l'hydrolyse du mélibiose, du manninotriose et du sucre provenant de l'hydrolyse partielle du verbascose par l'invertine.

Je n'ai encore pas pu trouver d'explication satisfaisante pour le cas qui nous occupe.

Si la composition des teintures ne diffère que légèrement au point de vue des sucres, il n'en est pas de même pour les principes glucosidiques, comme on le verra dans le tableau suivant :

Tableau IV.

	TEINTURE à chaud	TEINTURE à froid	TEINTURE officinale
Déviatiôn initiale.....	— 4° 7'	— 43'	— 1° 17'
Déviatiôn après émulsine.....	+ 17'	+ 5'	— 7'
Sucre réducteur initial.....	0 ^{gr} 176	0 ^{gr} 274	0 ^{gr} 342
Sucre réducteur après émulsine....	0, 702	0, 544	0, 588
Retour par émulsine.....	4° 24'	48'	1° 10'
Sucre réducteur par émulsine.....	0 ^{gr} 526	0 ^{gr} 270	0 ^{gr} 246
Indice.....	119	337	211
Gentiopictine.....	1 ^{gr} 039	?	?

Comparons d'abord les résultats que nous donnent les analyses des teintures à *chaud* et à *froid*.

On est immédiatement frappé par la grande différence qui existe entre les déviations initiales des deux teintures : — 4° 7' pour la teinture à chaud et — 43' pour la teinture à froid. Cette différence est due surtout à la disparition de la gentiopictine dans la seconde. En effet, sous l'action de l'émulsine, on constate un retour de 264' dans la teinture à chaud et seulement de 48' dans la teinture à froid. De plus, l'indice de réduction (337) de cette dernière indique que le glucoside qui y existe encore n'est pas de la gentiopictine, tandis que l'indice de la teinture à chaud (119) montre que l'on a toujours à faire à ce glucoside dont elle renfermerait 1 gr. 039 pour 100 cm³.

On sait que, dans l'hydrolyse de la gentiopictine par l'émulsine, la gentiogénine, insoluble dans l'eau, se dépose, à l'état cristallisé, sur les parois des vases, ainsi que l'ont montré MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY (1). Il est donc très facile d'obtenir la gentiogénine.

On peut employer la réaction caractéristique de ce corps, signalée par M. G. TANRET, comme moyen de contrôler la pré-

(1) Comptes rendus de la Société de Pharmacie. Séance du 1^{er} février 1899. (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) IX, p. 220, 1899).

sence de la gentiopicroine dans les liquides qui servent à l'analyse. La réaction de TANRET se fait de la façon suivante :

« A un peu de gentiogénine, on ajoute III à IV gouttes d'acide sulfurique pur ; après quelques instants, l'acide se colore en brun. Si, alors, on ajoute de l'eau, goutte à goutte, on voit se développer une coloration bleue ».

Pour opérer ainsi, il faut avoir de la gentiogénine à l'état sec. J'ai modifié légèrement le mode opératoire de façon à pouvoir obtenir la coloration bleue en opérant directement sur le produit humide, tel quel on vient de le recueillir dans l'essai à l'émulsine.

La gentiogénine recueillie sur un filtre et lavée à l'eau est traitée par 3 à 4 cm³ d'alcool à 95°. On reçoit l'alcool dans un tube à essai et on y fait tomber un égal volume d'acide sulfurique pur en ayant soin de ne pas mélanger les deux liquides. A la limite de séparation, il se développe une belle coloration bleue ; on mélange en agitant doucement, et tout le liquide se colore en bleu.

En traitant de la sorte le produit qui s'était précipité pendant l'action de l'émulsine dans la teinture à chaud, on a obtenu une réaction aussi nette qu'avec la gentiogénine pure. Avec le produit provenant de la teinture à froid, on n'a obtenu qu'une coloration bleue très faible. La gentiopicroine a donc en grande partie disparu dans la teinture à froid.

La différence dans la composition des deux teintures est donc très nette : dans la teinture à chaud, rendue *stable*, pour employer l'expression de LESUEUR (1), la gentiopicroine existe dans la proportion de 1 gr. 039 pour 100 cm³, ce qui correspond à la teneur de la racine employée, tandis que, dans la teinture à froid, pendant la préparation de laquelle les ferments n'ont pas été tués, la gentiopicroine n'existe pour ainsi dire plus.

Si on compare maintenant l'analyse de la teinture à froid et celle de la teinture officinale, on voit que les résultats sont à peu près identiques. Sous l'influence de l'émulsine, on constate dans la teinture à froid un retour à droite plus faible et la formation de plus de sucre réducteur que dans la teinture officinale. Les indices sont par suite très différents, 337 et 211.

(1) M. LESUEUR. — Influence du mode de préparation sur la composition et la stabilité des alcoolatures et des teintures. Stérilisation par l'alcool (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (6) XXX, p. 49, 1909).

On peut dire toutefois qu'il y a un rapport très étroit entre la composition d'une teinture de Gentiane préparée par macération avec une racine non fermentée et celle d'une teinture de Gentiane préparée de façon identique avec le produit officinal, c'est-à-dire avec une racine que l'on a fait fermenter au cours de la dessiccation.

MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY ayant montré que la poudre de Gentiane renferme de l'émulsine (1), on a pensé que cette disparition devait provenir de l'hydrolyse du glucoside par ce ferment pendant la préparation de la teinture. En ce qui concerne l'action de l'émulsine sur les glucosides, en milieu alcoolique, je n'ai trouvé signalée qu'une observation de BOUGAREL qui empêcha l'hydrolyse de l'amygdaline en ajoutant 1 à 2 cm³ d'alcool à un mélange obtenu en délayant 1 gr. de tourteau d'amandes dans 30 gr. d'eau (2).

En admettant que cette observation de BOUGAREL soit exacte, il fallait néanmoins s'assurer de l'activité de l'émulsine sur la gentiopicroïne dans un liquide renfermant 60 p. 100 d'alcool (alcool à 60°). Dans ce but, on a fait l'expérience suivante :

On a dissous 1 gr. de gentiopicroïne dans 100 cm³ d'alcool à 60° et on a ajouté dans le liquide 0 gr. 20 d'émulsine en poudre. On a abandonné le mélange à la température du laboratoire, en ayant soin d'agiter de temps en temps. Le liquide, d'abord incolore, a jauni peu à peu.

L'examen polarimétrique rend compte de l'action du ferment.

Déviatiôn initiale.....	— 4°
Après 2 jours.....	— 3° 20'
— 6 jours.....	— 2° 26'
— 10 jours.....	— 1° 46'
— 15 jours.....	— 1° 22'
— 20 jours.....	— 58'
— 34 jours.....	— 38'
— 40 jours.....	— 30'
— 48 jours.....	— 30'

(1) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Les sucres de la poudre et de l'extrait de Gentiane ; préparation du gentiobiose en partant de ces médicaments (*Journ. de Pharm. et de Chim.*, (6) XVI, p. 513, 1902).

(2) BOUGAREL. — De l'amygdaline. *Thèse inaugurale*, Paris, 1877, p. 50.

Cette expérience établit bien que l'émulsine exerce son action hydrolysante sur la gentiopicroine dans l'alcool à 60°.

L'hydrolyse est seulement ralentie et l'alcool n'a arrêté l'action du ferment qu'après un contact de 40 jours. A ce moment, il y avait 77,2 pour 100 de gentiopicroine hydrolysée.

La teinture à froid renfermant moins d'hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine que la teinture à chaud, et la poudre de Gentiane renfermant de l'invertine, on a fait agir l'invertine sur le sucre de canne en solution dans l'alcool à 60°.

L'invertine, elle aussi, agit en milieu alcoolique. L'essai a porté sur une solution de 1 gr. de saccharose dans 100 cm³ d'alcool à 60° ; on a ajouté à cette solution 0 gr. 20 de levûre de bière tuée par l'alcool, et on a abandonné le mélange à la température du laboratoire, en ayant soin d'agiter de temps en temps.

Déviatiôn initiale.....	+ 1°20'
Après 2 jours.....	+ 36'
— 6 jours.....	+ 6'
— 10 jours.....	+ 2'
— 15 jours.....	— 10'
— 20 jours.....	— 10'

Cette hydrolyse est plus rapide que la précédente, puisqu'en 10 jours il y a déjà 75 % de sucre hydrolysé, tandis qu'il n'y avait dans le même temps que 49,2 % de gentiopicroine détruite. Elle est arrêtée aussi bien plus tôt, en moins de 15 jours, alors qu'il y a 86,5 % de sucre hydrolysé.

Il ressort de ces deux expériences que ces deux ferments hydratants ne sont pas paralysés immédiatement par le contact avec l'alcool et qu'ils peuvent parfaitement exercer leur action en milieu alcoolique.

Les teintures alcooliques préparées selon le Codex doivent donc être, pendant leur préparation, le siège d'hydrolyses plus ou moins rapides, suivant l'activité des ferments que la matière première renferme.

La teinture de Gentiane préparée à froid, selon les indications du Codex, nous apporte la preuve de cette hydrolyse et nous montre quelle grande différence il peut parfois exister entre la composition de la matière première et la composition de la

teinture préparée par macération. LESUEUR avait déjà signalé des différences de même ordre, mais moins fortes.

En résumé, si on veut une teinture de Gentiane renfermant encore 1 % de gentiopicroine, il faudra la préparer à chaud, de façon à tuer sûrement tous les ferments que la racine contient, sinon la gentiopicroine sera hydrolysée par l'émulsine pendant la préparation.

Il est bon de faire remarquer que c'est la première fois que l'on signale une action hydrolysante de l'émulsine sur un glucoside en solution dans un alcool de titre aussi élevé.

C'est pour déterminer exactement de quelle façon s'opérait cette action que nous avons fait, M. BOURQUELOT et moi, toute une série d'expériences qui sont exposées dans le chapitre suivant.

CHAPITRE II.

Action de l'émulsine sur la gentiopicrine en milieu alcoolique ⁽¹⁾.

On admet généralement que de faibles quantités d'alcool suffisent pour annihiler complètement l'activité de certains ferments solubles. Pour ce qui est de l'émulsine, cette manière de voir s'appuie sur une expérience de BOUGAREL qui aurait empêché l'hydrolyse de l'amygdaline en ajoutant 1 à 2 cm³ d'alcool à un mélange obtenu en délayant 1 gr. de tourteau d'amandes dans 30 gr. d'eau (2).

Au cours de recherches sur la préparation de diverses teintures de Gentiane, l'un de nous a eu l'occasion de reconnaître que, dans l'alcool à 60°, l'émulsine de la racine et l'émulsine des amandes, employées sous forme de poudre, peuvent encore hydrolyser la gentiopicrine (3).

Laissant pour le moment de côté l'observation de BOUGAREL relative à l'hydrolyse de l'amygdaline, et que nous nous proposons de vérifier, nous nous sommes demandés jusqu'à quel degré l'alcool devait être porté pour arrêter définitivement l'action du ferment sur la gentiopicrine.

On a institué de nouveaux essais en ajoutant 0 gr. 20

(1) Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL. — *Journ. de Pharm. et de Chim.* (7); IV, p. 385, 1911).

(2) BOUGAREL. — *Loc. cit.*

(3) Voir chapitre précédent, p. ; voir aussi : *Société de Pharmacie.* — Procès-verbal de la séance du 5 avril 1911 (*Journ. de Pharm. et de Chim.* (7), III, p. 415, 1911).

d'émulsine à des solutions à 1 % de gentiopicroine dans l'alcool à 80°, à 85°, à 90° et à 95°, et on a abandonné ces mélanges à la température du laboratoire.

L'émulsine employée dans tous ces essais, ainsi que dans ceux qui vont suivre, provenant d'une même préparation, on voit qu'ils ont été faits dans les mêmes conditions que celui qui en a été le point de départ, et qu'ils sont en tous points comparables.

Le tableau suivant donne les résultats fournis par les examens polarimétriques que l'on a effectués successivement. La première colonne (alcool à 60°) renferme les chiffres qui ont été obtenus dans la première expérience et que l'on a déjà trouvés dans le chapitre précédent.

$l = 2$	ALCOOL à 60°	ALCOOL à 80°	ALCOOL à 85°	ALCOOL à 90°	ALCOOL à 95°
Déviatiun initiale . . .	— 4°	— 4°	— 4°	— 4°	— 4°
2 jours . .	— 3°20'	— 3°26'	— 3°36'	— 3°46'	— 4°
6 — . .	— 2°26'	— 2°34'	— 2°56'	— 3°20'	— 3°56'
10 — . .	— 1°46'	— 2°12'	— 2°26'	— 3°	— 3°54'
15 — . .	— 1°22'	— 1°46'	— 2°16'	— 2°52'	— 3°46'
20 — . .	— 58'	— 1°20'	— 2° 8'	— 2°32'	— 3°42'
34 — . .	— 38'	— 54'	— 1°42'	— 2°12'	— 3°42'
40 — . .	— 30'	»	»	»	»
48 — . .	— 30'	— 40'	— 1°20'	— 1°52'	»
53 — . .	»	— 38'	— 1°10'	— 1°48'	»
64 — . .	»	— 34'	— 1° 2'	— 1°48'	»
75 — . .	»	— 30'	— 52'	»	»
86 — . .	»	— 30'	— 52'	»	»

En examinant ce tableau, on voit que l'émulsine exerce son action hydrolysante sur la gentiopicine dans tous les liquides. La différence consiste dans la rapidité de l'hydrolyse et dans le temps après lequel elle est arrêtée définitivement.

Ainsi, avec l'alcool à 95°, l'hydrolyse est presque nulle et elle s'arrête du 15° au 20° jour, alors que les changements optiques indiquent qu'il y a hydrolyse de 6 à 7 % de glucoside.

Dans l'alcool à 90°, l'émulsine continue son action pendant plus de 50 jours et hydrolyse 48,4 % de glucoside.

Dans l'alcool à 85° et dans l'alcool à 80°, l'action est encore plus rapide et se continue pendant plus longtemps. Dans l'alcool à 85°, il y a 69,1 % de gentiopicine hydrolysée en 75 jours et, dans l'alcool à 80°, 77,2 % dans le même temps.

Dans ce dernier alcool, l'émulsine devient inactive après avoir détruit autant de gentiopicine que dans l'alcool à 60°, mais en 75 jours au lieu de 40. Il semblerait, d'après ces résultats, que l'émulsine soit tuée plus rapidement dans l'alcool à 60°, puisque l'action s'arrête au bout de 40 jours sans que tout le glucoside ait été détruit.

Il n'en est rien; l'émulsine n'est pas tuée; la réaction s'arrête parce qu'elle a atteint une limite qui ne peut être dépassée dans les conditions de l'expérience. C'est ce que prouve l'essai suivant :

On a recueilli l'émulsine qui avait été en contact, pendant 48 jours, avec la solution de gentiopicine dans l'alcool à 60°; on l'a lavée et on l'a mise dans une nouvelle quantité de solution de gentiopicine dans l'alcool à 60°. La déviation initiale, $\alpha = -4^\circ$, a passé en 10 jours à $-2^\circ 56'$ et en 20 jours à -2° . L'émulsine n'était donc pas tuée par un séjour de 48 jours dans l'alcool à 60°, et elle pouvait hydrolyser encore de la gentiopicine en milieu alcoolique, à la condition de la faire agir en dehors des produits de la réaction.

Il en a été de même, d'ailleurs, pour l'émulsine qu'on avait fait agir dans l'alcool à 80°. Après un contact de 90 jours, on l'a recueillie, lavée et on l'a mise dans une solution de gentiopicine à 1 % dans l'alcool à 60°. Une certaine quantité de glucoside s'est trouvée hydrolysée, ainsi que le montrent les chiffres suivants :

Déviatiôn initiale	— 4°
Après 12 jours	— 2°56'
Après 23 jours	— 2°30'
Après 40 jours	— 2°14'

L'action s'est arrêtée là ; après 60 jours, la déviation était encore — 2°14' ; il y avait eu hydrolyse de 38,9 % de gentiopirine.

On remarquera toutefois que l'activité du ferment a été diminuée par son premier contact avec l'alcool à 80°.

Dans toutes ces expériences, on a fait agir l'émulsine en poudre, en agitant assez fréquemment. La question se posait de savoir si le ferment passait en solution dans les liqueurs alcooliques pour agir ensuite sur le glucoside, ou bien s'il agissait uniquement sur la gentiopirine qui se trouvait à son contact.

Dans le but de résoudre cette question, on a opéré ainsi qu'il suit :

On a mis à macérer 0 gr. 20 d'émulsine dans 100 cm³ d'alcool à 10°, à 20°, à 30°, à 40°, à 50°, à 60°, à 80° et à 90°. On a laissé macérer pendant 8 jours à la température du laboratoire, en agitant de temps en temps ; après quoi, on a filtré de façon à obtenir des liquides parfaitement limpides. Dans 50 cm³ de ces différents liquides, on a ajouté 0 gr. 50 de gentiopirine, et on a examiné au polarimètre, sitôt après la complète dissolution. Cette dissolution a demandé environ 15 minutes ; pendant ce court laps de temps, une certaine proportion de gentiopirine a été hydrolysée, proportion plus ou moins forte suivant l'activité de la solution fermentaire. C'est pourquoi les déviations initiales des différentes solutions ne sont pas toutes identiques, ainsi qu'on le verra dans le tableau suivant qui résume les résultats obtenus :

SOLUTIONS	EXAMENS POLARIMÉTRIQUES EFFECTUÉS :				
	(l = 2)				
dans	aussitôt après la dissolution	après 1 jour	après 3 jours	après 7 jours	après 10 jours
Alcool à 90°.....	— 4°	— 4°	— 4°	— 4°	— 4°
— 80°.....	— 4°	— 4°	— 4°	— 4°	— 4°
— 60°.....	— 4°	— 4°	— 4°	— 4°	— 4°
— 50°.....	— 3°54'	— 3°54'	— 3°46'	— 3°36'	— 3°36'
— 40°.....	— 3°46'	— 3°16'	— 2°32'	— 1°58'	— 1°58'
— 30°.....	— 3°46'	— 56'	— 10'	+ 2'	+ 2'
— 20°.....	— 3°32'	— 4'	+ 18'	+ 22'	+ 22'
— 10°.....	— 3°30'	+ 10'	+ 22'	+ 22'	+ 22'

On voit d'abord que la gentiopirine contenue dans l'alcool à 90°, à 80° et à 60° est restée inattaquée : l'émulsine ne passe donc pas du tout en solution dans ces différents alcools. Elle commence seulement à se dissoudre dans l'alcool à 50°. L'hydrolyse est encore faible et elle porte sur 8,8 % du glucoside en solution, et elle s'arrête au bout de 7 jours. D'ailleurs, toutes les hydrolyses sont ici arrêtées en 7 jours, ou en moins de 7 jours. C'est là un fait intéressant à signaler, étant donné que, lorsqu'on fait agir l'émulsine en poudre, l'hydrolyse est lente et peut se continuer pendant plusieurs mois.

Dans l'alcool à 40°, on constate l'hydrolyse de 44,8 % de gentiopirine ; dans l'alcool à 30°, de 88,9 %, soit à peu près le double, et dans l'alcool à 20° et à 10°, de 96,3.

Dans ces deux derniers alcools, l'hydrolyse est très rapide, plus rapide dans l'alcool le plus faible. En 24 heures, dans l'alcool à 10°, l'émulsine a décomposé 91,8 pour 100 de gentiopirine. L'hydrolyse n'aurait pas été sensiblement plus rapide si le ferment avait agi dans une solution aqueuse.

En résumé, l'émulsine en poudre hydrolyse la gentiopicine, de façon notable, même dans l'alcool à 90°, et cela par simple contact, puisque le ferment ne passe pas en dissolution dans les liquides alcooliques renfermant 60 % d'alcool et plus.

L'hydrolyse en milieu alcoolique s'arrête quand une certaine proportion de glucoside est décomposée, sans pour cela que le ferment soit tué, même par un séjour de trois mois dans l'alcool à 80°. La proportion de glucoside hydrolysé lorsqu'on a atteint cette sorte de limite est d'autant plus faible que l'alcool est plus fort.

L'émulsine ne commence à passer en solution que dans l'alcool à 50°, milieu dans lequel elle ne produit qu'une hydrolyse faible.

Dans les alcools de titre inférieur, l'hydrolyse est d'autant plus rapide et plus complète que le titre est moindre.

L'émulsine agit parfaitement sur la gentiopicine dans des milieux alcooliques, et il est vraisemblable qu'il en est de même pour les autres glucosides hydrolysables par ce ferment.

CHAPITRE III.

Composition des teintures préparées par macération, avec l'alcool à 95° et par lixiviation avec l'alcool à 60°.

Au point de vue de la préparation de la teinture de Gentiane, on peut tirer, des faits que nous venons d'exposer, les renseignements suivants :

On a déjà vu précédemment que MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY avaient montré, en 1902, que la poudre de Gentiane des pharmacies renfermait de l'émulsine.

Néanmoins, si on veut préparer une teinture de Gentiane, à froid, avec une racine non fermentée, il apparaît comme possible d'obtenir un produit qui renferme, intacte, la plus grande partie de la gentiopictine contenue dans la racine.

En effet, dans l'alcool à 95°, l'action du ferment a été très faible et très lente. En préparant une teinture par macération, mais en remplaçant l'alcool à 60° par de l'alcool à 95°, la gentiopictine ne doit être hydrolysée qu'en très faible quantité, pendant les dix jours nécessaires à la macération, et elle passera en dissolution dans le dissolvant.

D'autre part, on a vu que l'émulsine est insoluble dans l'alcool à 60° ; elle n'agit donc, au cours de la macération, que parce que la gentiopictine dissoute reste à son contact. En évitant ce contact, ou plutôt en le réduisant le plus possible, l'hydrolyse de la gentiopictine doit être très faible.

Pour obtenir ce résultat, il suffit de changer le mode de dissolution, et de remplacer la macération par la lixiviation : on sait, en effet, que, dans la lixiviation, le dissolvant s'écoule au fur et à mesure qu'il se charge des principes solubles, qui ne restent donc pas en contact avec le marc.

C'est pour ces raisons que l'on a préparé deux teintures de Gentiane, l'une par macération, en employant de l'alcool à 95°, l'autre par lixiviation, en employant de l'alcool à 60°.

Pour préparer la teinture par macération, on a suivi les indications du Codex de 1908, mais en remplaçant l'alcool à 60° par de l'alcool à 95°.

On a donc fait macérer pendant 10 jours, dans 500 gr. d'alcool à 95°, 100 gr. de poudre de Gentiane, en agitant de temps en temps ; après quoi, on a exprimé à la presse et on a filtré. La teinture obtenue est bien moins colorée que celle que l'on a préparée de la même façon avec de l'alcool à 60° ; elle est d'un jaune rougeâtre assez clair.

La teinture préparée de la sorte ne peut être une teinture officinale, étant donné son degré alcoolique trop élevé. Pour qu'une telle teinture puisse être employée en thérapeutique, il aurait fallu opérer la macération des 100 gr. de poudre, non pas dans 500 gr. d'alcool à 95°, mais dans la quantité correspondant, en alcool absolu, à 500 gr. d'alcool à 60°, soit 282 gr. Une fois la macération terminée et le liquide filtré, on aurait ajouté la quantité d'eau nécessaire pour obtenir un alcool à 60°, soit 218 gr. Si je n'ai pas opéré ainsi, c'est qu'au moment de la préparation je n'avais en vue que d'empêcher l'action de l'émulsine sur la gentiopicroïne, au cours de la macération, et non d'obtenir un produit répondant, finalement, au titre alcoolique exigé par la Pharmacopée.

Pour la teinture par lixiviation, on a suivi également les indications que donnent le Codex de 1908 sur la préparation des teintures par ce procédé.

On a laissé 2 heures en contact la poudre mélangée avec la moitié de son poids d'alcool à 60° ; on a fait macérer avec l'alcool, pendant 24 heures, dans le percolateur ; après quoi, on a procédé à la lixiviation, de façon à obtenir, pour 100 gr. de poudre, 500 gr. de teinture. Toutes ces opérations successives

ne demandent pas plus de quatre jours; ce mode de préparation est bien plus rapide que la macération.

La teinture par lixiviation est beaucoup plus colorée que la teinture préparée avec l'alcool à 95°, par macération, mais elle a la même couleur que la teinture préparée avec l'alcool à 60°, par macération.

Les analyses de ces deux teintures ont été faites comme il a été précédemment indiqué.

Le tableau I correspond à l'essai de l'extrait débarrassé des glucosides par l'éther acétique, et le tableau II à l'essai de l'extrait glucosidique; 100 cm³ correspondent à 100 cm³ de teinture.

Tableau I. — (*Dosage des hydrates de carbone*).

	MACÉRATION alcool à 95°	MACÉRATION alcool à 60°
Déviatiou initiale.....	+ 1°12'	+ 3° 2'
— après invertine.....	— 34'	— 2°24'
— après émulsine.....	— 9'	— 10'
Sucre réducteur initial	0gr269	0gr999
— après invertine....	1,372	4,448
— après émulsine....	1,596	5,366
Recul par invertine.....	1°46'	5°26'
Sucre réducteur par invertine.....	1gr103	3gr447
Indice.....	624	634
Retour par émulsine.....	25'	2°14'
Sucre réducteur par émulsine.....	0gr224	0gr918
Indice.....	537	411
Gentiobiose.....	0gr514	2gr107

On voit immédiatement que la teinture préparée par macération, avec de l'alcool à 95°, est bien moins riche en hydrates de carbone que la teinture préparée par lixiviation avec de l'alcool à 60°. La déviation initiale droite est bien plus faible, — 1°12' au lieu de — 3°2' ; la proportion de sucre réducteur initial est près de quatre fois moindre, 0 gr. 269 au lieu de 0 gr. 999 ; le recul par l'invertine est de 106' au lieu de 326' : les deux tiers des sucres hydrolysables par ce ferment, gentianose et saccharose, sont restés dans le marc, à cause de leur faible solubilité dans l'alcool à 95°. La quantité de gentiobiose hydrolysé par l'émulsine est réduite au quart environ, 0 gr. 514 au lieu de 2 gr. 107.

Si on compare maintenant cette dernière teinture avec les deux teintures préparées à froid et à chaud, dont l'étude a fait l'objet du Chapitre I, on voit que la proportion des hydrates de carbone est sensiblement la même dans les trois. C'est pour le sucre réducteur initial que la différence est la plus grande, la teinture à chaud en renfermant 0 gr. 772, la teinture par lixiviation 0 gr. 999 et la teinture à froid 1 gr. 392. Sous l'action de l'invertine, il y a formation, dans la première, de 3 gr. 387 de sucre réducteur, dans la deuxième, de 3 gr. 447 et, dans la troisième, de 2 gr. 988, quantités assez voisines les unes des autres. Il en est de même pour le gentiobiose hydrolysé par l'émulsine, les proportions que l'on calcule étant respectivement : 2 gr. 234 ; 2 gr. 107 ; 1 gr. 944.

Dans le dosage de la gentiopicroïne, on trouvera des différences plus marquées.

Tableau II. — (*Dosage de la gentiopirine*).

	MACÉRATION alcool à 95°	LIXIVIATION alcool à 90°
Déviati ^{on} initiale.....	-- 3°10'	-- 2°43'
Déviati ^{on} après émulsine.....	+ 22'	+ 17'
Sucre réducteur initial.....	0 ^{gr} 197	0 ^{gr} 221
Sucre réducteur après émulsine....	0 ^{gr} 643	0 ^{gr} 668
Retour par émulsine.....	3°32'	3°
Sucre réducteur par émulsine.....	0 ^{gr} 446	0 ^{gr} 447
Indice.....	126	149
Gentiopirine	0 ^{gr} 881	0 ^{gr} 883

Les déviations initiales observées ont entre elles un écart de 27', et c'est dans la teinture par macération, dans l'alcool à 95°, que l'on trouve la déviation gauche la plus forte. Le retour de la déviation sous l'action de l'émulsine est également plus fort dans la même teinture ; la différence est ici de 32', ce qui représente un septième environ. Comme, d'autre part, la quantité de sucre réducteur produit sous l'action du ferment est très sensiblement la même, 0 gr. 446 et 0 gr. 447, l'indice de réduction enzymolytique que l'on calcule est, par suite, plus fort dans la teinture par lixiviation, 149 et 126. On doit penser qu'il y a eu, pendant la lixiviation, altération d'une faible quantité de gentiopirine. Il reste encore dans la teinture, une assez forte proportion de ce principe. En effet, on a recueilli le produit qui s'était précipité au cours de l'hydrolyse par l'émulsine et on l'a traité par l'alcool et l'acide sulfurique suivant les indications données dans le chapitre précédent ; on a obtenu, avec la plus grande netteté, la coloration bleue caractéristique de la gentiogénine.

Cette réaction indiquait que le glucoside, existant dans la teinture, et hydrolysé au cours de l'essai, était bien de la gentiopirine.

On en a d'ailleurs isolé très facilement la gentiopicrine en employant le procédé que M. G. TANRET a indiqué pour le traitement de la racine fraîche.

On a évaporé à sec, sous pression réduite, 100 cm³ de teinture, et on a épuisé l'extrait par l'éther acétique hydraté et bouillant. Après refroidissement, on a concentré, par distillation, à un volume déterminé, la solution dans l'éther acétique ; on a laissé reposer pendant 24 heures et on a décanté le liquide clair. La gentiopicrine a cristallisé ; on l'a recueillie et on l'a purifiée par cristallisation dans l'éther acétique anhydre. On a séché les cristaux à l'air.

Pouvoir rotatoire :

$$\alpha_D = -196^{\circ},32$$

$$(p = 0,9126 ; v = 100 ; l = 2 ; \alpha = -3^{\circ}35')$$

Le pouvoir rotatoire de la gentiopicrine hydratée et pure est : $\alpha_D = -196^{\circ}$.

La teinture par lixiviation renferme donc encore de la gentiopicrine, en proportion relativement élevée, puisqu'on obtient ce produit cristallisé en partant de 100 cm³ seulement.

La réaction de la gentiogénine, appliquée au produit recueilli, après l'hydrolyse, dans l'essai de la teinture préparée par macération, avec de l'alcool à 95°, a été également positive. Cette teinture renferme, elle aussi, de la gentiopicrine.

Si on compare l'analyse de la teinture par lixiviation avec celle de la teinture à chaud, on voit que cette dernière renferme, pour 100 cm³, 0 gr. 156 de gentiopicrine de plus : la quantité de gentiopicrine décomposée pendant la percolation est donc très faible, et on peut considérer ce mode opératoire comme excellent pour obtenir, sans intervention de la chaleur, une teinture de Gentiane renfermant encore le principe actif non altéré.

La composition de la teinture à froid est, par contre, très différente. Sous l'action de l'émulsine, on n'a constaté qu'un retour de 48', tandis qu'on a constaté un retour de 3° dans la teinture par lixiviation, et on a vu précédemment que la gentiopi-

crine avait presque entièrement disparu, au cours de la macération, sous l'influence de l'émulsine contenue dans la racine.

En résumé, sans avoir recours à la chaleur pour tuer les ferments, on peut facilement obtenir une teinture de Gentiane qui renferme encore environ 0,8 pour 100 de gentiopicroïne. Pour cela, on peut opérer de deux façons : 1° par macération, avec l'alcool à 95° ; 2° par lixiviation, avec l'alcool à 60°.

La teneur en gentiopicroïne des deux teintures, ainsi préparées, est sensiblement la même, mais, les hydrates de carbone étant peu solubles dans l'alcool fort, la teinture à base d'alcool à 95° renferme environ quatre fois moins de ces principes. On doit donc accorder la préférence à la préparation à base d'alcool à 60°.

La composition d'une teinture, par macération, avec l'alcool à 60°, est très différente de celle d'une teinture par lixiviation, avec l'alcool de même titre. Dans la première (teinture à froid), la gentiopicroïne a presque entièrement disparu, au cours de la préparation même, et, dans la seconde, ce principe existe encore en assez forte proportion, environ 0,8 pour 100 cm³, et il est facile de l'en isoler à l'état pur et cristallisé, par un traitement approprié.

On doit faire remarquer, en outre, que c'est la première fois que l'on signale une différence aussi profonde entre les compositions de deux teintures d'une même drogue, préparées avec un alcool de même titre, l'une par lixiviation, l'autre par macération.

CHAPITRE IV.

Extraits, vin et sirop de Gentiane.

I. *Extraits*. — MM. BOURQUELOT et HÉRISSEY ont établi, en 1902, que le sucre de canne, le gentianose et la gentiopicroïne ont disparu, en totalité, dans l'extrait aqueux de la pharmacopée française ; il ne reste plus, dans cet extrait, que les hexoses et le gentiobiose (1).

La question se posait de savoir, si, en employant, à la préparation de l'extrait aqueux officinal, une racine de Gentiane, séchée à l'air, sans fermentation, on constaterait, de même, la disparition de ces trois principes, et si la disparition serait partielle ou totale, comme avec une racine ayant fermenté.

On a préparé avec 200 gr. de racines non fermentées, un extrait aqueux, selon les indications de la Pharmacopée de 1908. Après avoir réuni les deux macérés, on a eu soin de les porter pendant 5 minutes à l'ébullition ; on a laissé refroidir et on a filtré ; on a ensuite évaporé la liqueur comme il est prescrit. Cette précaution de faire bouillir les liquides a pour but de tuer les ferments ; elle est inutile si on évapore, en extrait, au bain-marie bouillant, mais elle est nécessaire si on procède à l'évaporation, sous pression réduite, vers $+ 60-70^{\circ}$, comme on l'a fait ici.

On a obtenu ainsi 92 gr. d'extrait mou, soit un rendement de 46 $\frac{0}{100}$.

(1) EM. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — *Loc. cit.* (*Jour. de Pharm. et de Chim.*, (6) XVI, p. 513, 1902).

D'un autre côté, la préparation d'une teinture de Gentiane, par lixiviation, ayant donné un bon résultat au point de vue de sa teneur en hydrates de carbone et en gentiopicroine, on a préparé, par lixiviation, un extrait alcoolique.

Pour cela, on a suivi exactement les indications que donne le Codex de 1908 au sujet de la préparation de l'extrait d'aconit, mais on a remplacé l'alcool à 70° par l'alcool à 60° : 200 gr. de poudre de Gentiane ont fourni 105 gr. d'extrait mou, soit un rendement de 52,5 %. On obtient ainsi une plus forte quantité d'extrait.

Pour faire l'analyse de ces deux produits, on a opéré sur 5 gr., en suivant exactement le procédé déjà employé pour les teintures.

Tableau I.— (*Dosage des hydrates de carbone*).

	EXTRAIT AQUEUX par macération	EXTRAIT ALCOOLIQUE par lixiviation
Déviati on initiale.....	+ 3°46'	+ 3°7'
— après invertine.....	— 1° 7'	— 2°14'
— après émulsine.....	+ 5'	— 19'
Sucre réducteur initial.....	1gr590	1gr386
— après invertine....	4,480	4,578
— après émulsine....	5,346	5,371
Recul par invertine.....	4°53'	5°31'
Sucre réducteur par invertine.....	2gr790	3gr191
Indice.....	613	578
Retour par émulsine.....	1°12'	1°55'
Sucre réducteur par émulsine.....	0gr966	0gr793
Indice.....	805	413
Gentiobiose.....	2gr217	1gr811

Le tableau I correspond aux résultats de l'essai de l'extrait sucré (dosage des hydrates de carbone) ; le tableau II, aux résultats obtenus avec l'extrait glucosidique (dosage de la gentiopirine).

Ici, 100 cm³ des liquides essayés correspondaient à 10 gr. d'extrait.

On voit d'abord que la déviation initiale de l'extrait aqueux est la plus forte, ce qui peut tenir à ce que, dans cet extrait, il y a une plus grande quantité de sucre réducteur initial.

Sous l'action de l'invertine, par contre, le recul produit dans l'extrait alcoolique est supérieur de 38' : ce qui indique que c'est cet extrait qui renferme le plus d'hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine : la différence est relativement faible, 38' sur 331'.

Tableau II. — *Dosage de la gentiopirine.*

	EXTRAIT AQUEUX par macération	EXTRAIT ALCOOLIQUE par lixiviation
Déviatiou initiale.....	— 31'	— 2°58'
Déviatiou après émulsine	+ 7'	+ 14'
Sucre réducteur initial.....	0gr235	0gr245
Sucre réducteur après émulsine....	0gr314	0gr668
Retour par émulsine	38'	3°12'
Sucre réducteur par émulsine.	0gr079	0gr423
Indice.....	124	132
Gentiopirine	0gr1565	0gr8352

Sous l'action de l'émulsine, on constate le plus fort retour, 1°55' au lieu de 1°12', dans l'extrait alcoolique, tandis qu'on y trouve la plus faible quantité de sucre réducteur formé

corrélativement, 0 gr. 793 au lieu de 0 gr. 966. Une divergence du même ordre a déjà été signalée au cours de l'analyse des teintures par macération et par lixiviation, dans l'alcool à 60°. Somme toute, au cours de la macération dans l'eau, l'hydrolyse des sucres a été faible, puisque l'on obtient un extrait qui contient encore environ un cinquième de son poids d'hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine.

Alors qu'il n'y a qu'une différence peu importante entre les deux extraits, quant à leur teneur en hydrates de carbone, on en trouve une très grande quand on considère leur teneur en gentiopictine.

(Tableau II). Il n'y a, en effet, sous l'action de l'émulsine, qu'un retour de 38' dans l'extrait aqueux, tandis que, dans l'extrait alcoolique, le retour est de 192'. La différence est sensiblement la même que celle que l'on a signalée entre la composition de la teinture par macération et la composition de la teinture par lixiviation. Cependant, dans la teinture par macération, on calculait un indice de 337, ce qui indiquait que le glucoside hydrolysé n'était pas de la gentiopictine ; dans l'extrait aqueux au contraire, l'indice que l'on calcule, 124, montre que l'on a affaire à de la gentiopictine dont le degré de pureté est le même que dans l'extrait alcoolique, pour lequel on calcule un indice de 132.

D'ailleurs, la réaction de la gentiogénine s'obtient avec la même netteté, que l'on opère avec le produit recueilli dans l'hydrolyse de l'extrait aqueux, ou avec celui que l'on obtient dans l'hydrolyse de l'extrait alcoolique. La différence ne porte donc que sur la proportion de gentiopictine.

Si on ramène les chiffres à 100 gr. de produit, on trouve que l'extrait aqueux n'en renferme plus que 1 gr. 565 ‰, tandis que l'extrait alcoolique en contient encore 8 gr. 352. Mais la différence est encore plus grande, si on tient compte du rendement de la drogue en extrait.

En effet, en partant de 200 gr. de racines, on en a obtenu, d'un côté 92 gr., et de l'autre côté 105 gr. Les 200 gr. de racines renfermaient 10 gr. 332 de gentiopictine ; dans les 92 gr. de l'extrait aqueux, il y en a 1 gr. 489 et dans les 105 gr. de l'extrait alcoolique 8 gr. 769. Il y a eu hydrolyse de

8 gr. 843 de gentiopicroine d'une part et de 1 gr. 563 d'autre part, soit des pertes de 85,58 et de 15,12 %.

Si, dans l'extrait obtenu par macération, il reste encore une certaine proportion de glucoside, cette proportion est beaucoup trop faible, étant donnée la richesse de la matière première.

En résumé, en préparant un extrait de Gentiane, avec une racine séchée à l'air, et en suivant les prescriptions de la Pharmacopée de 1908, on obtient un produit qui renferme encore la majeure partie des hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine, mais dans lequel 85,58 % de la gentiopicroine sont hydrolysés.

En préparant un extrait de Gentiane, par lixiviation, avec de l'alcool à 60°, selon les indications du Codex relatives à l'extrait d'aconit, on obtient un meilleur rendement en extrait, 52,5 %, au lieu de 46 % dans le premier cas. En outre, l'extrait alcoolique renferme la presque totalité des hydrates de carbone hydrolysables par l'invertine que contenait la racine traitée, ainsi qu'une très forte proportion de gentiopicroine, 8 gr. 352 %, ce qui représente une perte de 15,12 %.

On devrait donc abandonner définitivement l'extrait aqueux de Gentiane et le remplacer par un extrait alcoolique, qui, on l'a vu, renferme encore les principes immédiats de la drogue elle-même.

II. Vin. — On a préparé le vin de Gentiane d'après le procédé indiqué au Codex de 1908.

On a fait macérer, pendant deux jours, 30 gr. de racine de Gentiane dans 60 gr. d'alcool à 60°; après quoi, on a ajouté 1000 gr. de vin blanc, et on a laissé macérer pendant dix jours en agitant de temps en temps.

L'analyse de ce vin a été faite selon la méthode habituelle, en opérant sur 200 gr. On a eu soin d'ajouter un excès de carbonate de calcium, avant d'évaporer, de façon à neutraliser les acides et les sels acides du vin, qui auraient pu hydrolyser une certaine partie du glucoside pendant l'évaporation. On a essayé uniquement l'extrait soluble dans l'éther acétique, que l'on a repris par une quantité suffisante d'eau thymolée pour faire

50 cm³. Cette concentration était nécessaire, étant donnée la faible proportion de racine de Gentiane qui rentre dans cette préparation.

Les résultats consignés dans le tableau suivant se rapportent donc à un liquide dont 100 cm³ correspondaient à 400 gr. de vin.

	ROTATION du liquide (l = 2)	SUCRES RÉDUCTEURS EXPRIMÉS en glucose	
		contenus dans 100 cm ³	formés pour 100 cm ³
Avant l'essai.....	— 1° 4'	0 ^{gr} 426	»
Après l'émulsine....	— 24'	0 ^{gr} 588	0 gr. 162 pour retour de 40'

L'indice de réduction que l'on calcule est 243, plus de deux fois plus fort que celui de la gentiopictine, 111; la réaction de la gentiogénine essayée sur le produit précipité pendant l'hydrolyse a été négative; le glucoside qui se trouve hydrolysé ici n'est donc pas de la gentiopictine. La décomposition a eu lieu au cours des deux macérations successives, et on retrouve là le même fait que l'on a déjà signalé à propos de la composition de la teinture officinale.

Le vin de Gentiane, préparé par macération, ne renferme donc plus de gentiopictine. Pour obtenir un vin qui en contiendrait encore, il suffirait d'opérer de la façon suivante :

On verserait les 60 gr. d'alcool à 60° sur les 30 gr. de racine de Gentiane, et on ferait bouillir à reflux pendant vingt minutes. Après refroidissement, on procéderait à la macération avec le vin. De cette façon, les ferments de la racine seraient tués et la gentiopictine inaltérée passerait en dissolution dans le vin.

On n'a pas préparé de vin de Gentiane en suivant ce mode opératoire; cependant les résultats que l'on a obtenus en préparant une teinture de Gentiane à chaud, avec de l'alcool à 60°, viennent à l'appui de cette manière de voir.

Sirop. — Pour la préparation du sirop de Gentiane, on a suivi également le procédé indiqué au Codex de 1908.

On a fait un sirop par infusion, en employant, pour 100 gr. de racines, 1500 gr. d'eau bouillante. Finalement, on a obtenu environ 3.500 gr. de sirop.

L'analyse a été faite en opérant sur 200 gr. Comme pour le vin, on a essayé uniquement l'extrait glucosidique et les résultats consignés dans le tableau suivant se rapportent à un liquide dont 100 cm³ correspondaient à 400 gr. de sirop.

	ROTATION du liquide (l=2)	SUCRES RÉDUCTEURS EXPRIMÉS en glucose	
		contenus dans 100 cm ³	formés pour 100 cm ³
Avant l'essai.....	— 34'	0gr063	»
Après l'émulsine....	+ 22'	0gr180	0 gr. 117 pour retour de 56'

L'indice de réduction que l'on calcule est 125, assez rapproché de celui de la gentiopirine ; la réaction de la gentiogénine, essayée sur le produit précipité pendant l'hydrolyse a été très nettement positive : le glucoside hydrolysé pendant l'essai est donc bien de la gentiopirine. En calculant, d'après la quantité de sucre réducteur formé par l'émulsine, la quantité de gentiopirine que renferme le sirop, on trouve 0 gr. 231 pour 400 gr., soit, dans les 3.500 gr. de sirop, 2 gr. 021. Les 100 gr. de racine, qui ont servi à la préparation, en contenant 5 gr. 166, il y a eu une perte de 60,87 %. Cette perte est de 15 % moins forte que dans l'extrait préparé par macération dans l'eau avec la même racine. Cela est dû à ce que le mode de dissolution n'est pas le même ; l'extrait est préparé par macération et le sirop par infusion : en versant l'eau bouillante sur la Gentiane, une partie des ferments doit être détruite, ou, tout au moins, leur activité doit être très affaiblie, et c'est pourquoi il reste encore une quantité assez forte de gentiopirine dans le sirop de Gentiane préparé par le procédé officiel.

Le mode opératoire indiqué par le Codex est bon, et on peut le suivre quand on emploie une racine non fermentée.

CHAPITRE V

Conservation de la poudre et des teintures de Gentiane.

Après avoir ainsi démontré qu'il est possible d'obtenir, avec la Gentiane sèche, des préparations galéniques qui renferment encore de la gentiopictine, il fallait s'assurer de la bonne conservation de ces préparations. Les seules qui ont été essayées dans ce but sont les deux poudres dont il a été question dans ce travail, et trois teintures, la teinture à chaud, la teinture à froid et la teinture par macération dans l'alcool à 95°.

Je ne donnerai pas ici une seconde analyse de la teinture par lixiviation, ni des deux extraits de Gentiane. Ces trois préparations n'ont été faites qu'en octobre 1911; elles sont donc trop récentes pour étudier leur conservation. Par contre, les trois premières teintures ont été préparées en février 1911; il s'est écoulé huit mois entre la première et la seconde analyse, laps de temps suffisant au point de vue qui nous occupe ici.

La première poudre de Gentiane avait été préparée en janvier 1910; on en trouvera l'étude dans le travail que nous avons publié, M. BOURQUELOT et moi, et qui forme, dans cette Thèse, le Chapitre II de la Première Partie.

On a étudié de nouveau sa composition en juillet 1911, c'est-à-dire dix-huit mois après sa préparation.

Sa coloration s'est légèrement foncée, mais elle possédait

encore son odeur spéciale et caractéristique, qui permet de la différencier facilement de la poudre de *Gentiane officinale*.

Son analyse a été refaite suivant le procédé déjà employé la première fois, c'est-à-dire que l'on a épuisé directement la poudre par l'éther acétique et que l'on ne s'est occupé que de la partie glucosidique, soluble dans ce dissolvant.

En janvier 1910, on avait constaté, sous l'influence de l'émulsine, un retour de la déviation de $21^{\circ}30'$ avec formation de 2 gr. 278 de sucre réducteur, ce qui correspond à 4 gr. 202 de gentiopicroine. En juillet 1911, on a constaté un retour de $21^{\circ}32'$ avec formation de 2 gr. 276 de sucre réducteur.

La teneur en gentiopicroine de cette poudre est la même, après une conservation de dix-huit mois.

On a obtenu des résultats semblables en étudiant, en octobre 1911, une autre poudre de *Gentiane* qu'on avait préparée en janvier 1911. On trouvera la première analyse de cette poudre au Chapitre I de la seconde Partie. Ici, l'analyse ayant porté sur les sucres, d'une part, et sur la gentiopicroine, d'autre part, on a effectué, en octobre 1911, une analyse tout à fait semblable.

Dans le dosage des hydrates de carbone, on avait observé, sous l'action de l'invertine, un recul de $29^{\circ}6'$, avec formation de 19 gr. 082 de sucre réducteur ; huit mois après, le recul a été de $28^{\circ}56'$, avec formation de 19 gr. 064 de sucre réducteur. D'après l'action de l'émulsine (retour de $7^{\circ}38'$, avec formation de 3 gr. 434 de sucre réducteur), on avait calculé une proportion de gentiobiose de 7 gr. 885 ; on a constaté, en octobre 1911, un retour de $7^{\circ}30'$, avec formation de 3 gr. 440 de sucre réducteur.

On peut dire que la composition de la poudre, au point de vue de ces hydrates de carbone, est restée la même.

On avait calculé que cette poudre renfermait, pour 100 gr., 5 gr. 166 de gentiopicroine ; en octobre 1911, on a retrouvé 5 gr. 159, quantité calculée d'après un retour de la déviation de $23^{\circ}52'$, avec formation de 2 gr. 610 de sucre réducteur.

La poudre de *Gentiane* préparée avec une racine non fermentée se conserve donc d'une façon parfaite.

On trouvera la première analyse des teintures de *Gentiane*,

préparées à chaud, à froid et par macération dans l'alcool à 95°, dans les tableaux des Chapitres I et II de la Seconde Partie, p.

Tableau I. — *Dosage des hydrates de carbone.*

	TEINTURE à chaud	TEINTURE à froid	MACÉRATION Alcool à 95°
Déviatiun initiale.....	+ 3° 2'	+ 3°	+ 1°12'
— après invertine.....	— 2°19'	— 1°18'	— 38'
— après émulsine ¹	— 24'	+ 12'	— 18'
Sucre réducteur.....	0 ^{gr} 703	1 ^{gr} 410	0 ^{gr} 253
— réducteur après invertine	4, 372	4, 250	1, 305
— réducteur après émulsine.	5, 300	5, 235	1, 484
Recul par invertine.....	5°21'	4°18'	1°50'
Sucre réducteur par invertine..	3 ^{gr} 669	2 ^{gr} 840	1 ^{gr} 052
Indice.....	685	660	573
Retour par émulsine.....	1°45'	1°30'	20'
Sucre réducteur par émulsine..	0 ^{gr} 928	0 ^{gr} 985	0 ^{gr} 179
Indice.....	530	721	537
Gentiobiose.....	2 ^{gr} 130	2 ^{gr} 261	0 ^{gr} 410

La coloration de chacune de ces teintures n'a pas varié de février à octobre 1911. On a constaté, dans la teinture à chaud, la présence d'un précipité floconneux, occupant environ le quart du flacon, et qu'on a séparé par filtration; la teinture à froid était restée parfaitement limpide; dans la teinture par

macération dans l'alcool à 95°, il s'était formé un léger dépôt cristallisé, adhérent au fond du vase. Ce dépôt était trop peu abondant pour qu'on puisse identifier les cristaux dont il était constitué.

On a réuni, dans les mêmes tableaux, les analyses de ces teintures. Dans le tableau I, on trouvera les résultats fournis dans l'essai des extraits sucrés, et dans le tableau II les résultats de l'essai des extraits glucosidiques.

1° Teinture à chaud. — Sous l'action de l'invertine, le recul est de 5°21' au lieu de 5°45' en février 1911, soit une différence, en moins, de 24'; la quantité de sucre réducteur formé est de 3 gr. 669 au lieu de 3 gr. 387, soit une différence en plus de 0 gr. 282. Sous l'action de l'émulsine, on constate l'hydrolyse de 2 gr. 130 de gentiobiose, au lieu de 2 gr. 234. Les différences que l'on constate sont en somme peu importantes.

2° Teinture à froid. — Sous l'action de l'invertine, on observe un recul de 4°18' avec formation de 2 gr. 840 de sucre réducteur, au lieu de 4°33' avec formation de 2 gr. 998 de sucre réducteur. La différence est ici de même ordre, contrairement à ce qu'on a remarqué dans la teinture à chaud. Sous l'action de l'émulsine, le retour est de 1°30' avec formation de 0 gr. 985 de sucre réducteur, ce qui donne un indice de réduction de 721. Dans le premier essai, on avait observé un retour de 1°16' avec formation de 0 gr. 847 de sucre réducteur, ce qui donne 669 comme indice. Il y a donc dans ce cas des différences assez grandes, mais qui tiennent, sans doute, au recul de la déviation vers la gauche, recul que l'on a déjà constaté à la fin de l'hydrolyse par l'émulsine.

3° Teinture par macération dans l'alcool à 95°. — Sous l'action de l'invertine, on constate ici un recul de 1°50' au lieu de 1°46', avec formation de 1 gr. 052 de sucre réducteur au lieu de 1 gr. 103. Sous l'action de l'émulsine, le retour est de 20' au lieu de 25', avec formation de 0 gr. 179 de sucre réducteur au lieu de 0 gr. 224.

On peut dire que la teneur en hydrates de carbone des teintures à chaud et par macération dans l'alcool à 95° est restée

sensiblement la même, tandis que dans la teinture à froid, on a constaté des différences plus fortes, notamment sous l'action de l'émulsine : la quantité de gentiobiose aurait même augmenté très légèrement : elle aurait passé de 1 gr. 944 à 2 gr. 261.

Tableau II. — *Dosage de la gentiopirine.*

	TEINTURE à chaud	TEINTURE à froid	MACÉRATION alcool à 95°
Déviatiou initiale.....	— 3°48'	— 45'	— 3°12'
— après émulsine.....	+ 24'	+ 3'	+ 26'
Sucre réducteur initial.....	0gr202	0gr289	0gr248
— après émulsine.....	0,770	0,693	0,770
Retour par émulsine.....	4°12'	48'	3°38'
Sucre réducteur par émulsine..	0gr568	0gr404	0gr522
Indice.....	135	505	143

1° *Teinture à chaud.* — Le retour que l'on constate est légèrement plus faible que dans la première analyse, 4°12' au lieu de 4°24' ; et, pour un retour plus faible de 12' il y a formation de 0 gr. 042 de sucre réducteur en plus. L'indice de réduction est, par conséquent, augmenté : 135 au lieu de 119. Cette augmentation montre qu'il y a dû y avoir altération d'une certaine quantité de glucoside.

Le gentiopirine existe cependant en quantité assez forte dans cette teinture : le produit précipité au cours de l'hydrolyse par l'émulsine a été recueilli et a donné la réaction caractéristique de la gentiogénine.

De plus, on a réussi à obtenir la gentiopirine à l'état pur et cristallisé en partant de 100 cm³ de teinture et en suivant exactement le mode opératoire qui permis de l'isoler de la teinture par lixiviation.

La gentiopicrine ainsi préparée avait un pouvoir rotatoire de :

$$\alpha_D = -195^{\circ},77$$
$$(p = 0,7534; v = 50; l = 2; \alpha = -5^{\circ}54')$$

Même après une conservation de 8 mois, la teinture à chaud renferme encore une assez forte proportion de gentiopicrine.

2° *Teinture à froid.* — Le retour que l'on constate est le même que lors du premier essai, 48', mais, comme pour la teinture à chaud, la quantité de sucre réducteur formé en même temps est plus forte, 0 gr. 404 au lieu de 0 gr. 270. L'indice que l'on calcule est ici de 505.

L'altération du glucoside a donc continué dans cette teinture. D'ailleurs la réaction de la gentiogénine essayée sur le précipité formé au cours de l'hydrolyse par l'émulsine a donné un résultat négatif. Dans le premier essai, on avait obtenu une très faible coloration bleue.

Il ne reste donc plus trace de gentiopicrine dans cette préparation.

3° *Teinture par macération dans l'alcool à 95°.* — Comme dans les deux autres teintures, on constate ici une augmentation de la quantité de sucre réducteur produit par l'invertine, et une augmentation de l'indice de réduction, 143 au lieu de 126. Néanmoins, la réaction de la gentiogénine a été positive, et on peut affirmer, sans avoir isolé le glucoside, que cette teinture renferme encore de la gentiopicrine.

En résumé, la poudre de Gentiane est d'une excellente conservation, puisque, même au bout de 18 mois, la teneur en gentiopicrine de cette préparation n'a, pour ainsi dire, pas varié.

On constate, au contraire, dans les teintures vieilles de 8 mois, une altération plus ou moins forte suivant leur mode de préparation et l'alcool employé. L'altération, pour les hydrates de carbone, est à peu près négligeable; elle porte surtout sur les principes glucosidiques.

Il y a eu, dans les 3 teintures essayées, une augmentation de l'indice de réduction enzymolytique, et, dans la teinture à froid, qui, dès sa préparation, ne renfermait plus guère de gentiopicrine, la disparition totale de ce principe.

A quoi peut tenir l'altération de la gentiopicrine ? On l'a observée même dans la teinture préparée à chaud, c'est-à-dire dans une teinture qui ne peut pas renfermer de ferments. Cette altération est peut être produite par une action très lente de l'alcool sur la gentiopicrine.

CONCLUSIONS.

Voici les principales conclusions que l'on peut tirer de ce travail :

I.— En appliquant la méthode biochimique de M. BOURQUELOT à la racine fraîche de Gentiane, on est arrivé à constater que, dans l'extrait soluble dans l'éther acétique, il n'existe qu'un seul glucoside hydrolysable par l'émulsine, la *gentiopicroine*. La *gentiamarine*, glucoside amorphe découvert par M. G. TANRET à côté de la gentiopicroine, n'existe pas dans la racine fraîche. C'est au cours du traitement que cet auteur fait subir à la Gentiane fraîche pour en préparer l'extrait alcoolique que la gentiamarine se forme aux dépens d'une certaine proportion de gentiopicroine, sous l'action des ferments contenus dans la racine.

La racine fraîche de Gentiane renferme toujours au moins 2 pour 100 de gentiopicroine.

II. — On peut facilement obtenir une racine de Gentiane sèche renfermant de 5 à 7 pour 100 de gentiopicroine, suivant l'époque de la récolte ; il suffit pour cela d'opérer la dessiccation à l'air et de ne pas provoquer la fermentation des racines.

La coloration rouge de la racine de Gentiane, telle qu'on la trouve en droguerie, n'est pas indice de bonne dessiccation ; au contraire, elle prouve que la racine a subi une altération profonde, et que la majorité des principes immédiats ont été détruits.

Une racine de Gentiane desséchée de façon normale présente une cassure d'un blanc jaunâtre et l'on devrait rejeter, comme

altérées, les racines présentant la coloration rougeâtre que l'on exige à l'heure actuelle.

III. — Avec une racine de *Gentiane* séchée à l'air sans fermentation, il est possible d'obtenir des préparations galéniques qui, toutes, renferment une quantité notable de gentiopicroïne, et qui, par conséquent, au point de vue thérapeutique, seraient plus actives, ou bien auraient des propriétés différentes de celles des préparations officinales actuelles qui n'en renferment pas.

α). — La *poudre* est jaunâtre et dégage une odeur rappelant à la fois celle de la Réglisse et celle de la *Gentiane*. Elle est susceptible de se conserver pendant 18 mois sans subir d'altération; elle pourrait donc remplacer la poudre de *Gentiane* des pharmacies.

β). — La *teinture* préparée par macération avec l'alcool à 60° ne contient pour ainsi dire plus de gentiopicroïne. Ce principe a été hydrolysé au cours de la macération même par l'émulsine qui existe dans la racine de *Gentiane*.

Dans la teinture préparée en faisant tomber la poudre dans l'alcool à 60°, bouillant, il y a encore 1 pour 100 de gentiopicroïne.

Sans intervention de la chaleur, on peut obtenir des teintures de *Gentiane* qui renferment environ 0,8 pour 100 de glucoside: par macération, avec l'alcool à 95°, ou bien, en conservant l'alcool à 60°, mais en remplaçant la macération par la lixiviation.

γ). — L'*extrait* préparé par macération dans l'eau suivant les indications du Codex de 1908 est presque privé de gentiopicroïne. Il y a eu, pendant la macération, hydrolyse de 85,58 pour 100 de ce principe.

En préparant un extrait alcoolique par lixiviation, on obtient, par contre, un produit contenant plus de 8 pour 100 de gentiopicroïne.

δ). — Le *vin* préparé par 2 macérations successives ne renferme plus de gentiopicroïne: ce glucoside a été hydrolysé pendant la préparation. En remplaçant la macération de 2 jours dans l'al-

cool par une ébullition à reflux de 20 minutes, il est probable que l'on obtiendrait un vin dans lequel on retrouverait les principes immédiats de la racine.

ε) Le *sirop*, préparé par infusion, contient encore de la gentiopicroïne : une certaine quantité de ce glucoside n'étant pas hydrolysée par suite de la destruction partielle des ferments.

IV. — J'ai donné un essai des préparations de Gentiane, qui peut servir de dosage de la gentiopicroïne. C'est essai est, en somme, une application de la méthode biochimique. Pour le faire, on opère sur de faibles quantités de matière première : 10 gr. de poudre, 5 gr. d'extrait, 50 cm³ de teinture, et pour favoir seulement une indication très précise sur la présence de la gentiopicroïne dans la préparation essayée, il suffit de 24 heures.

Un pareil essai pourrait fort bien figurer dans les Pharmacopées.

V. — S'il était établi que la valeur de la racine de Gentiane dépend de sa teneur en gentiopicroïne, ce qui est vraisemblable, d'après les recherches de M. G. TANRET, il serait à souhaiter de voir notre Pharmacopée officielle exiger, comme produit officinal, une racine de Gentiane non fermentée, à *cassure blanc jaunâtre*, et non rougeâtre : toutes les racines à teinte rougeâtre devant être rejetées comme altérées.

On a vu qu'avec une telle matière première, en changeant le mode opératoire employé pour la préparation de la teinture, de l'extrait et du vin, on obtient des préparations officinales de Gentiane qui renferment environ les deux tiers du principe actif de la drogue fraîche.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de Thèse,

Em. BOURQUELOT.

Vu :

Le Directeur de l'Ecole :

H. GAUTIER.

Vu et permis d'imprimer :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris :

LIARD.

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
Introduction.....	5

PREMIÈRE PARTIE

Composition de la racine fraîche et de la racine sèche de Gentiane.....	15
CHAPITRE PREMIER.— Historique.— Composition chimique de la racine de Gentiane.....	15
CHAPITRE II.— De l'influence du mode de dessiccation sur la composition de la racine de Gentiane.....	29
CHAPITRE III.— Variations dans la composition de la racine de Gentiane au cours de la végétation d'une année.....	37

DEUXIÈME PARTIE

Etude des préparations galéniques de la racine de Gentiane.....	59
CHAPITRE PREMIER. — Composition des teintures de Gentiane préparées à chaud et à froid avec de l'alcool à 60°	59
CHAPITRE II. — Action de l'émulsine sur la gentiopierine en milieu alcoolique.....	71
CHAPITRE III. — Composition des teintures de Gentiane préparées par macération avec l'alcool à 95°, et par lixiviation avec l'alcool à 60°.....	77

	Pages
CHAPITRE IV. — Composition des extraits de Gentiane..	84
Composition du vin de Gentiane.....	88
Composition du sirop de Gentiane.....	90
CHAPITRE V. -- Conservation de la poudre et des teintures de Gentiane.....	91
CONCLUSIONS	99
